

Universidade Nova de Lisboa  
Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa

Presença de aflatoxinas em arroz e cereais  
Importados na União Europeia - Revisão bibliográfica  
e análise de dados RASFF

Vera Luísa Mota Machado Drumond

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da  
Universidade Nova de Lisboa para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia  
e Segurança Alimentar

Orientadora: Professora Doutora Maria Margarida Boavida Pontes Gonçalves

Monte de Caparica  
2012



“Presença de aflatoxinas em arroz importado na União Europeia - Revisão bibliográfica e análise de dados RASFF”.” © Vera Drumond, FCT/UNL, UNL.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Professora Doutora Benilde Mendes, coordenadora do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, pela sua dedicação e constante melhoria da qualidade deste curso e por me ter proporcionado a mim e aos meus colegas as condições necessárias para a realização do mesmo, mostrando-se sempre atenta às necessidades dos alunos.

À Professora Doutora Margarida Gonçalves um agradecimento muito especial pela disponibilidade, a sabedoria e transmissão de conhecimentos em todo o processo de orientação desta dissertação. Foi um privilégio ter sido sua orientanda.

A todos os professores e colegas do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar, pelo papel que tiveram no meu percurso e pelo trabalho desempenhado ao longo deste mestrado. Agradeço a disponibilidade e o encorajamento constante.

Aos meus colegas e chefes da empresa onde trabalho, pela sua compreensão e flexibilidade horária que me foi concedida, dentro da medida do possível, de modo a que pudesse efectuar este curso.

A todos os meus amigos que me apoiaram ao longo de todo este processo, aceitando as minhas constantes ausências. À Paula, pela sua incansável amizade a qualquer hora e em qualquer momento. À Patrícia pelas suas sugestões e pelas manifestações de interesse e encorajamento.

À minha família, em especial aos meu pais e à minha irmã Ana, pelo apoio incondicional, compreensão nos momentos de maior indisponibilidade minha, e por estarem sempre presentes.

Ao meu companheiro, agradeço com um carinho muito especial a presença, a partilha, a compreensão e o incentivo fundamentais no desenvolvimento deste trabalho.



## Resumo

A presença de micotoxinas em cereais é uma questão que preocupa as autoridades de higiene e segurança alimentar a nível internacional. No caso concreto da cultura do arroz, a presença de aflatoxinas tem sido detectada em vários mercados europeus.

Este trabalho consiste na revisão bibliográfica da problemática da presença de aflatoxinas em arroz, cereais e seus derivados e no levantamento e análise de dados referentes a notificações RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) no período de 2000 a 2012.

Verificou-se, entre outros aspectos que, o arroz foi um dos principais cereais contaminados, principalmente o arroz Basmati. Esse arroz proveniente maioritariamente do Paquistão e da Índia apresenta frequentemente teores de aflatoxinas, superiores ao máximo permitido.

As micotoxinas mais frequentemente detectadas nessas notificações foram as aflatoxinas, apresentando níveis muito superiores aos limites máximos admissíveis na União Europeia. Os valores mais frequentemente encontrados para o arroz situam-se entre 5 e 10  $\mu\text{g/kg}$  e os valores mais elevados são superiores a 50  $\mu\text{g/kg}$ .

No caso do arroz associa-se a época das chuvas ao aparecimento de fungos produtores de micotoxinas tendo como consequência uma maior ocorrência de notificações e valores mais elevados de micotoxinas.

Os diferentes limites máximos admissíveis nas várias regiões do globo e a inexistência desses limites nalguns países tornam ainda mais difícil o controlo destes contaminantes carcinogénicos.

Devido à sua elevada toxicidade, é importante desenvolver métodos de prevenção e de fácil detecção destas substâncias, de modo a evitar que estas entrem na cadeia alimentar.

Palavras-chave: Aflatoxinas, Arroz, Basmati, Micotoxinas, RASFF, segurança alimentar.





## **Abstract**

The presence of mycotoxins in cereals is an issue that concerns the food and safety international authorities. The presence of aflatoxins in rice has been detected in several European markets.

This work comprehends a bibliographic review of the information concerning the issue of aflatoxin contamination and rice and cereals and the critical analysis of the data on aflatoxin detection compiled in the RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) system in the period from 2000 to 2012.

According to this analysis, it was found that rice was among the cereals most contaminated, especially the Basmati rice from Pakistan. Moreover, it was determined that the Basmati rice had contamination levels above the maximum permissible limits.

The mycotoxins most commonly found in these reports were aflatoxins, with levels much higher than the maximum permissible limits in the European Union. The most frequently encountered values for rice lie between 5 and 10  $\mu\text{g} / \text{kg}$  and higher values were greater than 50  $\mu\text{g} / \text{kg}$ .

In the case of rice, the rainy season may be associated to the emergence of mycotoxin-producing fungi resulting in a higher incidence of notifications and higher levels of mycotoxins.

The different maximum permissible limits in the various regions of the globe and the absence of such limits in some countries hampers control of these carcinogenic contaminants.

Due to its high toxicity, it is important to develop methods of prevention and easy detection of these substances in order to avoid their presence in the food chain.

**Keywords:** Aflatoxins, Rice, Basmati, Mycotoxins, RASFF, Food safety.

## Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	ix
Índice	1
Índice de Figuras	5
Índice de Tabelas	9
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	11

### CAPÍTULO I

1. - Introdução	13
-----------------	----

### CAPÍTULO II

2.- Micotoxinas em alimentos	17
2.1 – Tipo de micotoxinas	17
2.2 – Organismos produtores de micotoxinas (Fungos toxigénicos)	24
2.3 - Toxicidade	26
2.4 – Alimentos contaminados com micotoxinas – Ocorrências	27
2.5 - Limites máximos admissíveis de micotoxinas em Cereais na União Europeia	29
2.6 - Prevenção da contaminação de cereais por micotoxinas	29
Referências bibliográficas	30

### CAPÍTULO III

3.- Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2	33
3.1– Aflatoxinas – introdução	33
3.2– Características físicas e químicas das aflatoxinas	33
3.3– Condições para a contaminação	35
3.4– Toxicidade e Carcinogenicidade das aflatoxinas	36
3.5- Inativação das aflatoxinas	38
3.6– Prevenção da ocorrência de aflatoxinas em produtos armazenados	38
3.7– Métodos analíticos para determinação de aflatoxinas	39
i) Métodos de preparação da amostra e pré-concentração	39
ii) Métodos Analíticos	43
Referências bibliográficas	49

## **CAPÍTULO IV**

<b>4.- Produção e consumo de arroz</b>	<b>57</b>
4.1- A cultura do arroz – origem e importância	57
4.2- Tipos de arroz comercializados	58
4.3 – Produção e consumo de arroz em Portugal, na União Europeia e no Mundo	60
Referências bibliográficas	67

## **CAPÍTULO V**

<b>5.- Aflatoxinas em arroz</b>	<b>69</b>
5.1 - Legislação comunitária	69
5.2 - Legislação nacional	72
5.3 - Legislação noutros países	73
5.4 - Ocorrência de aflatoxinas em arroz – casos	77
Referências bibliográficas	81

## **CAPÍTULO VI**

<b>6. – Dados do RASFF para casos de micotoxinas em arroz, cereais e produtos de panificação</b>	<b>83</b>
6.1 – Introdução	83
6.2 – As Notificações RASFF	83
6.3 – Responsabilidade da Comissão Europeia e dos seus membros no RASFF	86
6.4 – A Base legal	86
6.5 – Informação ao consumidor	87
6.6 – A importância do RASFF no caso particular das micotoxinas e aflatoxinas em alimentos - Perspectivas futuras	87
6.7. – Dados RASFF para a presença de micotoxinas em arroz e cereais de 2000 a 2012	89
Referências bibliográficas	90

## **CAPÍTULO VII**

<b>7. – Discussão de resultados</b>	<b>91</b>
7.1 – Análise de dados RASFF referente a notificações em arroz contaminado por micotoxinas	91
7.2 – Análise de dados RASFF referente a notificações em cereais e produtos derivados contaminados por micotoxinas	103
Referências bibliográficas	117

---

## **CAPÍTULO VIII**

<b>8. - Conclusões</b>	<b>119</b>
------------------------	------------

<b>ANEXOS</b>	<b>123</b>
---------------	------------

### **ANEXO I**

- LMA de micotoxinas para cereais na EU de acordo com o reg (CE) n.º 1881/2006

### **ANEXO II**

- Notificações RASFF para micotoxinas em arroz de Janeiro 2000 a Agosto 2012
- Notificações RASFF para micotoxinas em cereais e derivados de Janeiro 2000 a Agosto 2012
- Legenda



## Índice de Figuras

Figura 2.1 – Estrutura da Aflatoxina B1 – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	18
Figura 2.2 – Estrutura da Aflatoxina B2 – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	19
Figura 2.3 – Estrutura da Aflatoxina G1- Fonte: fermentek: <i>website</i> .	19
Figura 2.4 – Estrutura da Aflatoxina G2 – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	19
Figura 2.5 – Estrutura da citrinina – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	20
Figura 2.6 – Estrutura da ocratoxina A – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	20
Figura 2.7 – Estrutura da patulina – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	21
Figura 2.8 – Estrutura da fumonisina B1 (R=OH) – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	21
Figura 2.9 – Estrutura da fumonisina B2 (R=O) – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	22
Figura 2.10 – Estrutura da zearalenona – Fonte: fermentek: <i>website</i> .	22
Figura 2.11 – Estrutura do DON – Fonte: tocris-bioscience: <i>website</i> .	23
Figura 2.12 – Estrutura da ergotamina – Fonte: pubchem: <i>website</i> .	24
Figura 2.13 – Aspecto de espiga de milho afectada pelo fungo <i>F. graminearum</i> – Fonte: <a href="http://www2.ca.uky.edu/">http://www2.ca.uky.edu/</a> ( <i>website</i> ).	25
Figura 2.14 – <i>Aspergillus flavus</i> causador de contaminação por aflatoxinas – Fonte: icrisat: ( <i>website</i> ).	26
Figura 2.15 – A amostragem de grãos para teste da presença de micotoxinas representa parte do custo da mercadoria – Fonte: apsnet: <i>website</i> .	27
Figura 3.1 – Fórmula química das principais aflotoxinas. Fonte: M. E. Zain, (2010).	34
Figura 3.2 – Princípio de funcionamento de um sistema MycoSep (TM) – Fonte: romerlabs: <i>website</i> .	42
Figura 3.3 – Fluxograma representativo do método QuEChERS original – Fonte: Chromatography online: <i>website</i> .	43
Figura 3.4 – Separação cromatográfica de aflatoxinas G2, G1, B2 e B1 por HPLC a 5, 1.5, 5, 1.5 ng/ml concentração de solução, respectivamente - Fonte: caslab: <i>website</i> .	45
Figura 4.1 – Diferentes tipos de grãos de arroz. Fonte: <a href="http://arrozeiras-mundiarroz.pai.pt/ms/ms/arrozeiras-mundiarroz-sa-tipos-e-variedades-de-arroz-2100-051-coruche/ms-90048939-p-8/">http://arrozeiras-mundiarroz.pai.pt/ms/ms/arrozeiras-mundiarroz-sa-tipos-e-variedades-de-arroz-2100-051-coruche/ms-90048939-p-8/</a>	58
Figura 4.2 – Vários tipos de arroz: da esquerda para a direita: arroz vaporizado, arroz negro, arroz agulha, arroz vermelho. Fonte: <a href="http://vilamulher.terra.com.br/arroz-tipos-e-beneficios-11-1-70-285.html">http://vilamulher.terra.com.br/arroz-tipos-e-beneficios-11-1-70-285.html</a>	59
Figura 4.3 – Principais áreas de produção de arroz na Europa. Fonte: Mac Lean <i>et al.</i> , 2002.	61

Figura 4.4 – Percentagem do volume de produção da cultura do arroz nos principais países europeus produtores na década de 2001 a 2010. Fonte: FAOSTAT.	62
Figura 4.5 – Volume de produção de arroz em MT de 2001 a 2010 nos principais países produtores da Europa. Fonte: FAOSTAT.	62
Figura 4.6 – Principais produtores de arroz a nível mundial na década de 2001 a 2010 – fonte: FAO.	64
Figura 4.7 – Evolução da produção de arroz na década de 2001 a 2010 a nível mundial. Fonte:FAO.	64
Figura 4.8 – Consumo de arroz <i>per capita</i> na União Europeia nos vários países de 2001 a 2010 em proporção – fonte: Eurostat.	66
Figura 5.1 – Percentagem da população global coberta por regulamentação sobre limites máximos de micotoxinas em alimentos em 2005 – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).	73
Figura 5.2 – Países com e sem legislação que regulamente a presença de micotoxinas em alimentos. Fonte: (adaptado de FAO, 2004).	74
Figura 5.3 - Limites máximos para o teor de aflatoxina B1 em alimentos (a nível mundial) – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).	74
Figura 5.4 - Limites máximos para o teor de aflatoxinas total em alimentos (a nível mundial) – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).	75
Figura 5.5 - Principais países produtores de arroz de 2001 a 2010 a nível mundial – Fonte: FAO	76
Figura 5.6 – Exemplo de mercado de venda de arroz em Manila – fonte: <a href="http://in.reuters.com/">http://in.reuters.com/</a>	77
Figura 5.7 – Proporção de casos de amostras com detecção de níveis de aflatoxina B1 em arroz abaixo ou acima do LMA (limite máximo admissível na União Europeia), em estudos realizados nas últimas décadas.	79
Figura 5.8 – Níveis de aflatoxinas detectados em arroz em vários países por vários autores.	79
Figura 6.1 - Processo de notificação RASFF, abrangendo todos os intervenientes – fonte: <a href="http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/about_rasff_en.htm">http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/about_rasff_en.htm</a> .	85
Figura 7.1 – Número de notificações referentes a micotoxinas em arroz, por mês no período de 2000 a 2012.	92
Figura 7.2 – Número de notificações referentes a micotoxinas em arroz, por ano no período de 2000 a 2012.	92
Figura 7.3 – Tipos de notificações RASFF ocorridas de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.	93
Figura 7.4 – Base de notificação RASFF que esteve na origem das ocorrências de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.	94
Figura 7.5 – Número de notificações efectuadas por cada país, de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.	94
Figura 7.6 – País de origem do arroz notificado derivado à presença de micotoxinas, no período de 2000 a 2012.	95

Figura 7.7 – Tipos de arroz e seus derivados em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	96
Figura 7.8 – Tipos de arroz e respectivas origens de casos em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	97
Figura 7.9 – Casos em que houve um país intermediário na importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	98
Figura 7.10 – Países que foram intermediários na importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	98
Figura 7.11 – Acção tomada em casos de importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	99
Figura 7.12 – Status de distribuição face à acção tomada em casos de importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	100
Figura 7.13 – Países que distribuíram arroz com notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	100
Figura 7.14 – Tipo de micotoxinas em casos de notificações RASFF em arroz no período de 2000 a 2012.	101
Figura 7.15 – Teores de aflatoxina B1 detectados nas amostras de arroz notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.	102
Figura 7.16 – Teores de aflatoxinas totais em amostras de arroz, notificados no sistema RASFF, no período de 2000 a 2012.	103
Figura 7.17 – Número de notificações referentes a micotoxinas em cereais, por mês no período de 2000 a 2012.	104
Figura 7.18 – Número de notificações referentes a micotoxinas em cereais, por ano no período de 2000 a 2012.	105
Figura 7.19 – Tipos de notificações RASFF ocorridas de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminado com micotoxinas.	106
Figura 7.20 – Base de notificação RASFF que esteve na origem das ocorrências de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminados com micotoxinas.	106
Figura 7.21 – Número de notificações efectuadas por cada país, de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminado com micotoxinas.	107
Figura 7.22 – País de origem do cereal notificado derivado à presença de micotoxinas, no período de 2000 a 2012.	108
Figura 7.23 – Tipos de cereais e seus derivados em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	109
Figura 7.24 – Tipos de cereais e respectivas origens de casos em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	110
Figura 7.25 – Casos em que houve um país intermediário na importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	111
Figura 7.26 – Países que foram intermediários na importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	111



Figura 7.27 – Acção tomada em casos de importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	112
Figura 7.28 – Status de distribuição face à acção tomada em casos de importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	113
Figura 7.29 – Países que distribuíram cereais com notificação RASFF no período de 2000 a 2012.	114
Figura 7.30 Tipos de micotoxinas detectados em casos de notificações RASFF em cereais no período de 2000 a 2010.	115
Figura 7.31 – Teores de aflatoxina B1 detectados nas amostras de cereais notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.	115
Figura 7.32 – Teores de aflatoxinas totais detectados nas amostras de cereais notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.	116

## Índice de Tabelas

Tabela 2.1 – Algumas micotoxinas, as suas fontes e potencial toxicidade – Fonte: adaptado de FAO, 1989.	18
Tabela 2.2 – Apresentação de casos de micotoxinas encontradas em diversos alimentos e respectivas percentagens de amostras positivas detectadas.	28
Tabela 3.1 – Características físicas e químicas das principais aflatoxinas - Fonte: OPAS, 1983.	35
Tabela 3.2 – Relação entre a ingestão de AFB1 (excluídas outras causas) e a incidência de CHC, em países de África e Ásia. – Fonte: Oliveira & Germano, 1997.	37
Tabela 3.3 – Alguns exemplos de ensaios efectuados recentemente para determinação de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.	48
Tabela 4.1 – Ranking de produtos agrícolas produzidos em Portugal no ano 2010. Fonte: <a href="http://faostat.fao.org">http://faostat.fao.org</a>	61
Tabela 4.2 – Somatório da produção da década de 2001 a 2010 para os principais produtores – fonte: FAO.	63
Tabela 4.3 – Consumo médio per capita (kg/ano) em vários países da Europa – Eurostat.	65
Tabela 5.1 – Valores máximos permitidos para AFB1 e AFM1 em alimentos específicos para crianças.	70
Tabela 5.2 – Teores máximos de aflatoxinas permitidos em cereais em µg/kg, segundo a o regulamento (UE) n.º 165/2010.	71
Tabela 5.3 – Limites máximos admissíveis para aflatoxinas B1 e aflatoxinas totais em cereais para alguns países originários destes alimentos – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).	76
Tabela 5.4 – Incidências de aflatoxinas em arroz em vários países e respectivos níveis mais elevados encontrados.	78
Tabela 6.1 – Simbologia referente ao tipo de notificação RASFF aplicada – Fonte: <a href="http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf">http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf</a>	84



## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

AESA	“Agriconsulting Europe S.A.”
AFB1	Aflatoxina B1
AFB2	Aflatoxina B2
AFG1	Aflatoxina G1
AFG2	Aflatoxina G2
ALARA	“As low as reasonable acceptable”
AOAC	“Association of Official Analytical Chemists”
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
Aw	“Water activity”
C <sub>18</sub>	Coluna cromatográfica com fase de superfície octadecil
C <sub>8</sub>	Coluna cromatográfica com fase de superfície octil
CE	Comissão Europeia
CE	Electroforese capilar
CEN	“Comité Européen de Normalisation”
CHC	Carcinoma Hepatocelular
DAD	“Diode Array detector”
DON	Desoxinivalenol
DR	Diário da República
d-SPE	Extracção em fase sólida dispersiva
EFSA	“EFTA Surveillance Authority”
EFTA	“European Free Trade Association”
EFTSA	“European Food Safety Authority”
ELISA	“Enzyme-linked immunosorbent assay”
ESA	“EFTSA Surveillance Authority”
EU	“European Union”
FA1	Fumonisina A1
FA2	Fumonisina A2
FA3	Fumonisina A3
FAO	“Food and Agriculture Organization”
FAOSTAT	Base de dados estatísticos da FAO
FB1	Fumonisina B1
FB2	Fumonisina B2
FB3	Fumonisina B3
FL	“Fluorescence detector”
FLD	“Postcolumn Fluorescence Derivatization”
GC	Cromatografia gasosa
HBV	“Hepatitis B virus”

HPLC	“High-Performance Liquid Chromatography”
IA	Imunoafinidade
IAC	“Immunoaffinity column”
IAE	“Immunoaffinity extraction”
IARC	“International Agency for Research on Cancer”
kg	Quilograma
LC	Cromatografia líquida
LDL	“Low density lipoprotein”
LLE	“Liquid-liquid extraction”
LMA	Limite máximo admissível
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MAE	“Microwave Assisted Extraction”
MISPE	“Molecularly imprinted solid phase extraction”
MS	“Mass spectrometry”
MSPD	“Matrix solid phase dispersion”
MT	“Metric Tons”
NC	Nomenclatura Combinada
ng	Nanograma
Nm	Nanómetro
°C	Graus Celsius
QuEChERS	“Quick, easy, cheap, effective, rugged and safe”
RASFF	“Rapid Alert System for Food and Feed”
s/d	Sem data
SPE	“Solid phase extraction”
TLC	“Thin layer chromatography”
UV	Ultra-violeta
WHO	“World Health Organization”
$\lambda_{em}$	“emission wavelengths”
$\lambda_{ex}$	“excitation wavelengths”
>	Maior que
$\mu\text{g}$	Micrograma

## CAPÍTULO I

### 1. - Introdução

A segurança dos alimentos, saúde e bem-estar humano e dos animais e também a fitossanidade são uma das prioridades da União Europeia (UE). Essa prioridade é garantida através de medidas coerentes "desde a exploração agrícola até à mesa" e de uma vigilância adequada, assegurando simultaneamente o funcionamento efectivo do mercado interno.

O desenvolvimento de medidas legislativas e outras acções que envolvem a criação e manutenção de sistemas de controlo eficazes e de observância das normas da UE nos sectores da qualidade e segurança dos alimentos, da saúde e do bem-estar dos animais, da alimentação animal e da fitossanidade, tanto na UE como em países terceiros, no que respeita às suas exportações para a EU, tem sido de crucial importância na implementação dessas medidas.

As aflatoxinas são consideradas contaminantes, como tal são substâncias que não sendo adicionadas intencionalmente aos géneros alimentares podem estar presentes como resíduo da produção, do acondicionamento, da armazenagem, ou da contaminação pelo ambiente. De modo a reduzir ao mínimo possível o efeito negativo na saúde humana e animal destes contaminantes nos alimentos, a União Europeia (UE) adoptou medidas legislativas para reduzir o seu teor na alimentação. O objectivo destas medidas é obter um nível elevado de protecção da saúde pública.

As aflatoxinas incluem-se no grupo das micotoxinas. São metabolitos secundários produzidos por espécies de fungos do género *Aspergillus*, mais especificamente, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *A. nomius*, que se encontram difundidos em qualquer parte do mundo, tanto no ar como no solo, infestando plantas vivas e mortas e também animais que se alimentam de plantas contaminadas (Moss, 1996).

Estes compostos são altamente tóxicos, mutagénicos, teratogénicos e carcinogénicos que têm sido considerados como agentes causadores de carcinogénese hepáticas e extra-hepáticas em humanos. Existem estudos epidemiológicos que fazem referência à nocividade das aflatoxinas e que as relacionam com a incidência de casos de cancro do fígado em populações expostas a alimentos contaminados com este tipo de toxina (Peers & Linsell, 1973; Dichter, 1984; Groopman *et al.*, 1988). A contaminação humana com aflatoxinas resulta directamente da exposição a alimentos contaminados, ou indirectamente quando proveniente do consumo de leite de animais contaminados pela sua alimentação (Pereira *et al.*, 2005).

Têm sido efectuados vários estudos em diferentes países com o objectivo de verificar a presença de aflatoxinas em alimentos. Neste trabalho destaca-se, particularmente as situações relacionadas com o arroz. A maioria desses estudos foram efectuados a partir de amostras recolhidas aleatoriamente em armazéns de retalho e mercados de rua, muito embora existam alguns casos de recolha no campo (Hussaini *et al.*, 2011).

Numa época em que na Europa cada vez mais se consome arroz importado, há que ter em conta esta situação, até porque os limites máximos admissíveis (LMA) na Europa são diferentes dos LMA de outros países da Ásia e de outras regiões do Globo. Além disso, nalguns países são mesmo inexistentes. Fredlund *et al.* (2009) referem que a maior parte do arroz contaminado que detectaram no ensaio efectuado e que apresentava valores acima do LMA era arroz Basmati proveniente do Paquistão e arroz Thai Jasmine proveniente da Tailândia, países onde não existe LMA ou os valores são superiores aos da UE.

Iqbal e os seus colaboradores (2012) no seu estudo efectuado a diferentes tipos de arroz contaminado com aflatoxinas no Paquistão referem que a percentagem de amostras de arroz contaminadas com aflatoxinas varia entre 14 e 36%, consoante a variedade. O teor de aflatoxinas encontrado também se encontra bastante acima do limite definido pela UE, pelo que segundo Iqbal, o arroz é um factor de peso para a introdução de aflatoxinas na dieta dos paquistaneses e não só, já que este país é o principal exportador mundial de arroz Basmati.

O arroz, rico em hidratos de carbono, alimenta cerca de 50% da população mundial, sendo a terceira maior cultura cerealífera em todo o mundo. Em muitos países da Ásia, África e América Latina, o arroz representa e representará durante os próximos anos, o principal cereal da sua dieta (Maclean *et al*, 2002, Yoshida, 1981).

Actualmente, o arroz é produzido em todos os continentes, apesar de o principal produtor a nível mundial ser a China, abarcando cerca de 30% da produção total. Aproximadamente um bilião de lares na Ásia, África e América dependem do cultivo do arroz como principal fonte de rendimento (Maclean *et al*, 2002). Portugal é o principal consumidor de arroz da União Europeia, destacando-se dos outros países por apresentar um consumo anual de cerca de 17 kg de arroz *per capita*.

O RASFF (sistema de alertas rápidos para alimentação humana e animal), desenvolvido em 1979 veio evitar muitas situações de risco alimentar que poderiam prejudicar a saúde dos consumidores. O RASFF permite, quando combinado com outros dados, estabelecer critérios que possibilitam a criação de métodos para detectar riscos emergentes para a segurança alimentar. Além disso, permite verificar os casos mais frequentes que ocorreram num dado período.

No presente trabalho compilaram-se os dados RASFF de contaminação de arroz, cereais e seus derivados com micotoxinas no período de Janeiro de 2000 a Agosto de 2012.

## Referência bibliográficas:

- Dichter, C.R. (1984) Risk estimates of liver cancer due to aflatoxin exposure from peanuts and peanut products. *Food Chem. Toxicol.* 22: 431-437.
- Fredlund E, Thim A-M, Gidlund A, Brostedt S, Nyberg M, Olsen M.( 2009) Moulds and mycotoxins in rice from the Swedish retail market. *Food Addit Contam A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 26: 527–533.
- Groopman, J.D., Cain, L.G., Kensler, T.W. (1988) Aflatoxin exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. *Crit. Rev. Toxicol.* 19: 113-146.
- Hussaini Anthony Makun & Michael Francis Dutton & Patrick Berka Njobeh & Mulunda Mwanza & Adamu Y. Kabiru. (2011) Natural multi-occurrence of mycotoxins in rice from Niger. State, Nigeria. *Mycotox Res* (2011) 27: 97–104.
- Iqbal, S.Z. ; Asi, M. R; Ariño A; Akram, N; Zuber,M. (2012) Aflatoxin contamination in different fractions of rice from Pakistan and estimation of dietary intakes. *Mycotoxin Res* 28: 175–180.
- Moss, M. (1996) Mycotoxins – centenary review. *Mycol. Res* 100 ( 5 ): 13-523.
- Peers, F.G. & Linsell, C.A. (1973) Dietary aflatoxins and liver cancer – a population based study in Kenya. *Br. J. Cancer.* 27: 473-484.
- Pereira, M. M. G.; Carvalho, E.P.; Prado, G.; Rosa, C.A.R.; Veloso, T.; Souza, L.A.F.; Ribeiro, J.M.M. (2005) Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil. *Ciência e Agrotecnologia.* 29 (1): 106-112.
- Yoshida, S. (1981) – Fundamentals of rice crop science – 1981 Shouichi Yoshida – International Rice Research Institute, Philippines – 269 p.
- Maclean, J.L., Dawe, D.C., Hardy, B., Hettel, G.P. (2002) *Rice Almanac – Source book for the most important economic activity on earth.* 3<sup>rd</sup> edition. Cabi Publishing. Wallingford. UK. 253 p.





## CAPÍTULO II

### 2. - Micotoxinas em alimentos

#### 2.1 – Tipo de micotoxinas

A existência de micotoxinas conhece-se desde a antiguidade e as suas consequências fazem-se sentir desde o início da história da agricultura. Já no Antigo Testamento da Bíblia Sagrada se faz referência ao ergotismo (Matossian, 1989).

No início dos anos 60, a doença X dos perus fez despertar a atenção para o problema das micotoxinas e para as suas implicações na saúde, quando a doença vitimou milhares de perus na Inglaterra (Sargeant *et al*, 1962).

As micotoxinas são metabolitos secundários tóxicos produzidos por diferentes tipos de fungos filamentosos, sendo os principais pertencentes aos géneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (Miller, 1994); (Sweeney e Dobson, 1998); (Moss, 2002).

Esses fungos infestam as culturas e sintetizam toxinas que são transmitidas ao substrato onde os fungos se desenvolvem, demonstrando propriedades tóxicas em animais (Miller, 1994).

O desenvolvimento de fungos depende de condições ambientais que podem ser favoráveis ou não ao seu crescimento e consequentemente à produção de micotoxinas (Sweeney e Dobson, 1998), por esse motivo, a contaminação pode ocorrer no campo, na fase da colheita, transporte ou na fase de armazenamento (Moss, 2002; Peraica *et al.*, 1999).

Existem variações geográficas e climáticas ao nível do globo, o que leva a variações na produção e na ocorrência de micotoxinas. No entanto, apesar de existirem micotoxinas em todo o mundo, a contaminação surge numa certa extensão, sendo especialmente relevante em populações que baseiam a sua alimentação num tipo de produto, como é o caso do arroz na Ásia. Caso essa fonte esteja contaminada, poderá originar um problema de saúde pública grave, uma vez que a população está continuamente exposta à micotoxina (Hussein & Brasel, 2001).

Devido à sua grande variedade de efeitos tóxicos e também devido à sua elevada resistência ao calor, a presença de micotoxinas em alimentos é considerado um problema de alto risco para a saúde pública e para os animais (Zain, 2010; Jarvis, 2002; Hussein & Brasel, 2001). A esta situação acresce o facto de um determinado alimento poder ser contaminado com micotoxinas em diferentes estágios do processo de produção (Bennet and Klich, 2003).

Não obstante, porém a avaliação do risco das micotoxinas para a saúde é importante, de forma a salvaguardar a saúde do consumidor e de forma a estabelecer limites legais relativamente à existência destas substâncias contaminantes nos alimentos transaccionados.

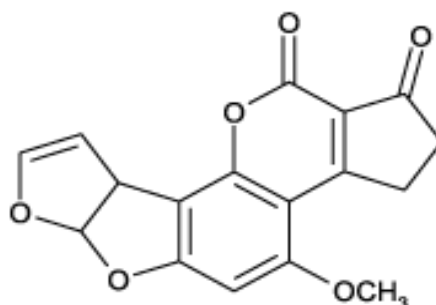
Na tabela 2.1 indicam-se as principais micotoxinas conhecidas, bem como os fungos que as produzem e os seus efeitos na saúde humana e animal.

**Tabela 2.1 – Algumas micotoxinas, as suas fontes e potencial toxicidade – Fonte: adaptado de FAO, 1989.**

Toxinas	Principais fungos produtores	Efeitos de toxicidade
Aflatoxinas	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Hepatocarcinogénico e esteatose hepática (fígado gordo)
Citrinina	<i>Penicillium vindicatum</i> <i>Penicillium citrinum</i>	Nefrotóxico
Ocratoxina	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Hepatotóxico
Patulina	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium patulum</i>	Hemorrágico (cérebro e pulmão) e carcinogénico
Fumosinas	<i>Fusarium verticilloides</i>	Cancro de esófago, deficiências no tubo neural
Ergotamina	<i>Claviceps purpurea</i>	Gangrena de extremidades; convulsões; agente vasoconstritor
Trichothecenes	<i>Fusarium graminearum</i>	Citotóxico
Desoxinivalenol (ou vomitoxina)	<i>Fusarium graminearum</i>	Vômitos
Zearalenona	<i>Fusarium</i>	Efeito hiper - estrogénico

**As aflatoxinas** consistem num grupo de aproximadamente 20 substâncias que são metabolitos secundários de fungos toxigénicos e são as micotoxinas que apresentam maior capacidade carcinogénica (Steyn, 1995; Massey *et al.*, 1995). No entanto, apesar da sua diversidade, as aflatoxinas frequentemente encontradas em alimentos são apenas de quatro tipos: B1, B2, G1 e G2. As suas estruturas químicas estão representadas nas figuras 2.1 a 2.4.

As aflatoxinas B2 e G2 são os derivados di-hidrogenados dos compostos que lhes dão origem. Os fungos das espécies *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* são os três principais organismos produtores destas toxinas, podendo ocorrer numa vasta gama de alimentos, tais como cereais, amendoins e frutos secos, por exemplo (Hussein e Brasel, 2001; Moss, 1996). No capítulo II deste trabalho, encontra-se uma abordagem mais pormenorizada destas substâncias.



**Figura 2.1 – Estrutura da Aflatoxina B1 – Fonte: (fermentek, 2012).**

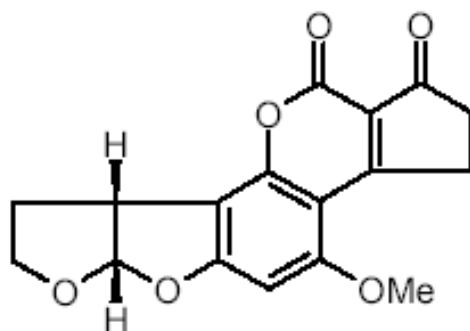


Figura 2.2 – Estrutura da Aflatoxina B2 – Fonte: (fermentek, 2012).

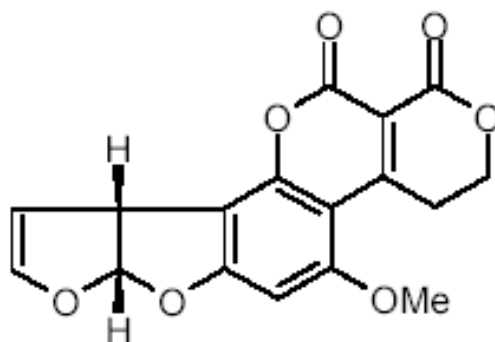


Figura 2.3 – Estrutura da Aflatoxina G1- Fonte: (fermentek, 2012).

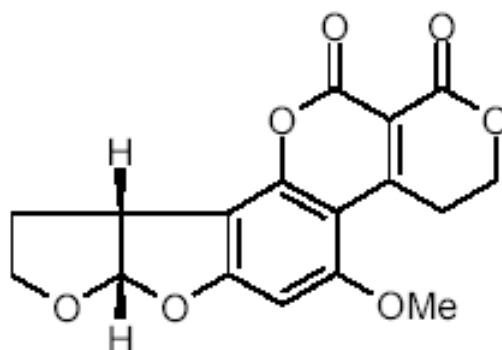


Figura 2.4 – Estrutura da Aflatoxina G2 – Fonte: (fermentek, 2012).

**A citrinina** é uma micotoxina produzida por *Penicillium citrinum*, *P. viridicatum* e outros fungos. Tem sido detectada a presença desta micotoxina em alimentos, tais como pão mofado, arroz polido, presunto curado, trigo, aveia, centeio, *Monascus ruber* e *Monascus purpureus* (espécies utilizadas industrialmente para produção de pigmentos de cor vermelha) e outros produtos alimentares (Bennet & Klich, 2003; Anderson, 1995).

Sob luz ultravioleta apresenta uma coloração amarela fluorescente. A sua designação química é ácido 4,6-dihidro-8-hidroxi-3,4,5-trimetil-6-oxo-3H-2-benzopirano-7-carboxílico e a sua fórmula:  $C_{13}H_{14}O_5$ . A estrutura química da citrinina está apresentada na figura 2.5 (fermentek, 2012).

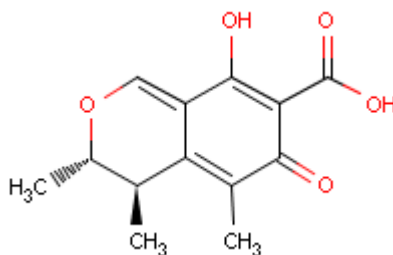


Figura 2.5 – Estrutura da citrinina – Fonte: (fermentek, 2012).

Bennet & Kilch (2003) referem estudos efectuados que referem o potencial nefrotóxico e a diversidade de sintomas que a citrinina pode causar em humanos e diferentes espécies animais.

**A ocratoxina A** pertence a um grupo de cerca de sete metabolitos secundários, todos eles relacionados estruturalmente, sendo este o mais conhecido devido à sua elevada toxicidade. O seu nome químico é L-fenilalanina N-(5-cloro-3,4-dihidro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-1H2-benzopirano-7-il) carbonil- (R)-isocumarina e a sua fórmula química:  $C_{20}H_{18}ClNO_6$ .

A ocratoxina A é considerada hepatotóxica e nefrotóxica (Moss, 1996; Steyn, 1995). Esta micotoxina tem sido encontrada em alimentos, tais como: milho, feijão, cereais, sementes de cacau, grãos de café, grãos de soja, frutas cítricas, vinho, castanhas do Brasil, tabaco mofado, presunto curado, amendoins e outros produtos similares. Normalmente é encontrada em produtos armazenados, sendo produzida por um grande número de fungos, como por exemplo: *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus alliaceus*, *Aspergillus ostianus*, *Aspergillus mellus* e outras espécies do género *Aspergillus*. Alguns fungos do género *Penicillium* também podem produzir ocratoxina A, como por exemplo: *P. viridicatum* e *P. cyclopium* e *P. variable* (Moss, 1996).

As concentrações normalmente observadas situam-se entre 0,3 e 1,6 µg/kg em cereais, 0,8 µg/ Kg em café e 0,01-0,1 µg/Kg em vinho (Battaglia *et al*, 1996).

Na figura 2.6 observa-se a estrutura química da ocratoxina A.

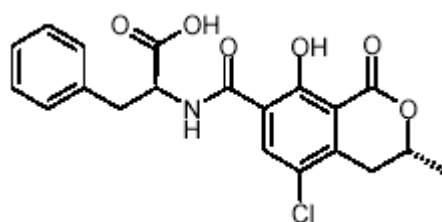


Figura 2.6 – Estrutura da ocratoxina A – Fonte: (fermentek, 2012).

**A patulina** é produzida por um grande número de fungos do género *Penicillium* (*P. claviforme*, *P. expansum*, *P. patulum*), alguns do género *Aspergillus* (*A. clavatus*, *A. terreus*) e também do género *Bissochlamys* (*B. nivea* e *B. fulva*) (Moss, 1996; Frémy *et al.*, 1995).

Quimicamente, a patulina é uma policetideo-cetona de nome: 4-hidroxi-4H-furo (3,2-c) pirano-2-(6H)-ona e a sua fórmula molecular é  $C_7H_6O_4$  (Bennet & Kilch, 2003; fermentek: 2012).

Tal como a citrinina e a ocratoxina A, a patulina tem sido detectada em alimentos mofados. Vários estudos referem que surge também frequentemente em frutas (maçãs, peras, seus sumos e geleias

ou compotas) (Bennet & Kilch, 2003; Burda, 1992; Plessi *et al.*, 1998, Sylos e Rodriguez-Amaya, 1999).

Taniwaki *et al.* (1989) em estudos realizados no Brasil constatou com frequência a inexistência do fungo na altura da colheita, mas detectou a sua presença mais tarde durante o processo de armazenamento.

Na figura 2.7 apresenta-se a estrutura molecular da patulina.

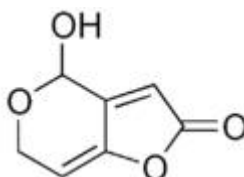


Figura 2.7 – Estrutura da patulina – Fonte: (fermentek, 2012).

**As fumonisinas** são produzidas por fungos do género *Fusarium* em milho e noutros cereais. As principais espécies produtoras são *F. antophilum*, *F. dlamini*, *F. napiforme*, *F. nygami*, *F. moniforme* e *F. proliferatum*, sendo estas duas últimas as principais produtoras destas micotoxinas. Existem doenças em humanos e em animais que são associadas às fumonisinas, principalmente porque surgem com maior incidência em regiões onde existe produção de milho contaminado com a presença de *Fusarium* (Meerdink, 2002; WHO-IARC, 1997).

Conhecem-se no mínimo sete fumonisinas diferentes, das quais três são do tipo A (FA1, FA2 e FA3) e quatro são do tipo B (FB1, FB2 e FB3). Existem outras menos importantes e que são consideradas secundárias. A fumonisina mais importante, por ser aquela que é produzida em maior quantidade é a FB1 (Meerdink, 2002; Osweder, 2001, Ross *et al.*, 1991).

A estrutura química da FB1 e da FB2 é muito semelhante, diferindo apenas numa ligação, no carbono 10 a FB1 apresenta um grupo –OH, enquanto na FB2, no local dessa ligação está um –H. As estruturas químicas da FB1 e FB2 podem ser observadas nas figuras 2.8 e 2.9.

As fumonisinas diferem em grande parte das outras micotoxinas já descritas porque para além de não possuírem estruturas cíclicas, são solúveis em água, o que não acontece nos outros casos. No entanto, à semelhança de outras micotoxinas são estáveis a temperaturas altas. (Moss, 1996).

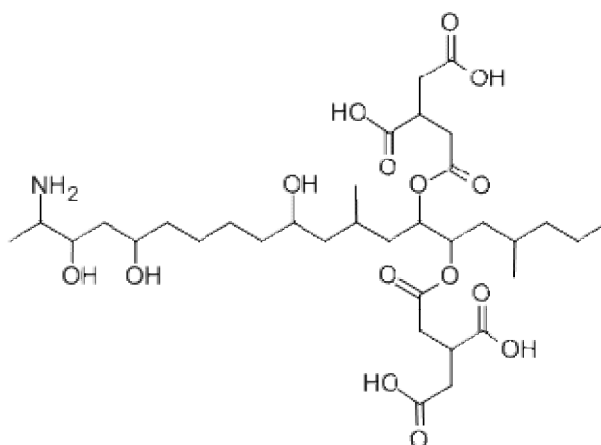


Figura 2.8 – Estrutura da fumonisina B1 (R=OH) – Fonte: (fermentek, 2012).

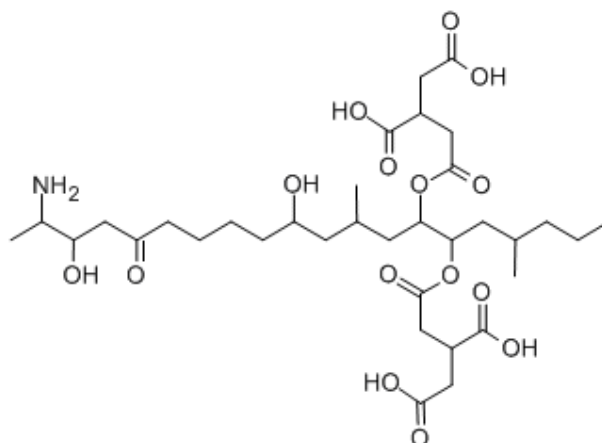


Figura 2.9 – Estrutura da fumonisina B2 (R=O) – Fonte: (fermentek, 2012).

**A zearalenona**, também designada por micotoxina F2 é uma micotoxina de origem natural produzida por fungos do género *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. roseum*, ou *Giberella zeae*, *F. tricinctum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*) (Zinedine *et al.*, 2007; Bennett & Klich, 2003; Moss, 1996).

A zearalenona está normalmente associada à cultura do milho, invadindo a planta no estágio de floração, principalmente em épocas húmidas, pois se os níveis de humidade permanecerem suficientemente altos na colheita o fungo desenvolve-se produzindo toxina. Para além do milho, outros cereais como a cevada, o trigo, o arroz e a aveia podem ser invadidos por esta micotoxina (Miller, 1994; Chelkowsky, 1989; Scott, 1989).

A sua fórmula química é  $C_{18}H_{22}O_5$  e na figura 2.10 apresenta-se a sua estrutura molecular (Zinedine *et al.*, 2007; WHO-IARC, 1997).

Em termos de toxicidade, as zearalenonas não são apontadas como mutagénicas, no entanto foram detectados casos que levam a concluir que possuem propriedades hormonais estrogénicas, promovendo o cio em camundongos e hiperestrogenismo em suínos (Moss, 1996; Steyn, 1995).

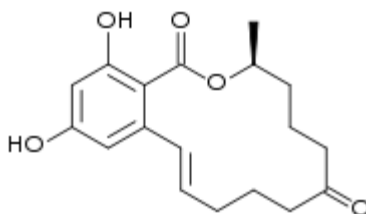


Figura 2.10 – Estrutura da zearalenona – Fonte: (fermentek, 2012).

**Os tricotecenos** são um grupo de cerca de 180 compostos relacionados quimicamente, sendo produzidos essencialmente por fungos do género *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. verticillioides*, *F. culmorum*). Estes compostos foram classificados como pertencendo a dois tipos diferentes: o grupo A

que inclui a toxina T-2 e a HT-2; e o grupo B que inclui o desoxinivalenol (DON), o nivalenol e a fusarenona X (Bondy e Pestka, 2010).

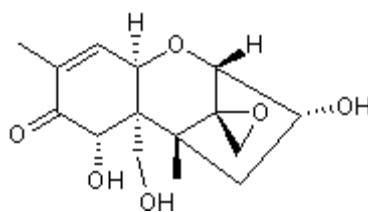
A informação referente à sua ocorrência em alimentos é escassa e geralmente refere-se ao desoxinivalenol (DON), ao nivalenol e ao T-2, sendo o DON o mais frequente (Bryden, 2012).

**O desoxinivalenol ou DON ou vomitoxina**, como também é designado, é um tricoteceno tipo B, um epoxi-sesquiterpenoide e a sua fórmula molecular é  $C_{15}H_{20}O_6$ . A sua estrutura química está apresentada na figura 2.11 (Steyn, 1995; ApSimon *et al.*, 1990).

O DON é solúvel em solventes polares orgânicos como o acetonitrilo, o metanol e o etil –acetato, mas pouco solúvel em água.

O DON é biologicamente activo, interferindo na diferenciação celular, no crescimento e na síntese macromolecular. Também actua a nível do sistema imunitário, podendo agir como imunossupressor ou como imunoinibidor (Pestka e Smolinsky, 2005; WHO-IARC, 1997).

O DON pode também causar sintomas como letargia, anorexia, úlcera gastrointestinal, vômitos e diarreia (Steyn, 1995).



**Figura 2.11 – Estrutura do DON – Fonte: (tocris-bioscience, 2012).**

Esta micotoxina surge frequentemente em cereais como o trigo, a cevada, centeio, milho, arroz e sorgo na altura da floração, estando associada a uma doença dos cereais (Ferrugem causada por fungos do género *Fusarium*) (Gautam e Dill-Macky, 2012b).

**A ergotamina** é um metabolito secundário produzido por fungos do género *Claviceps* ou raramente de certas estirpes de *Penicillium*, *Aspergillus* e *Rhizopus spp.* (Flieger *et al.*, 1997).

Esta substância surge normalmente nas plantas após uma infestação pelo fungo *Claviceps*. Trata-se de uma alcalóide e consoante a sua fonte (*Claviceps purpurea* ou *C. fusiformis*), os sintomas podem divergir. Os sintomas mais conhecidos estão relacionados com *C. purpurea* e podem provocar gangrena nos membros de um indivíduo que consuma alimentos contaminados com esta substância (King, 1979).

O ergotismo é raro, hoje em dia, devido aos processos de limpeza que se efectuam aos grãos actualmente no processamento dos cereais. Além disso, uma vez que a ergotamina é termolábil, ainda que existam resíduos desta micotoxina, acabam por ser eliminados durante o processo de cozedura do alimento (Peraica *et al.*, 1999).

A estrutura química da ergotamina está apresentada na figura 2.12 e a sua fórmula molecular é  $C_{33}H_{35}N_5O_5$ .



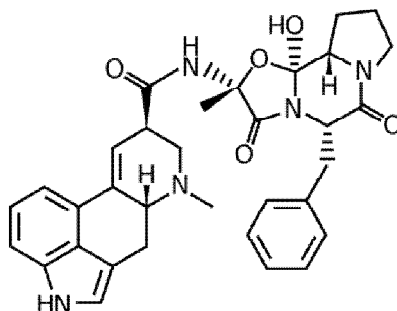


Figura 2.12 – Estrutura da ergotamina – Fonte: (pubchem, 2012).

## 2.2 – Organismos produtores de micotoxinas (Fungos toxigênicos)

Os fungos toxigênicos têm sido divididos em dois grupos distintos. Um inclui os fungos que invadem a planta e produzem toxinas antes da colheita. Estes são normalmente designados por “fungos de campo”. O outro grupo normalmente causa problemas após a colheita, em situações de armazenamento. No entanto, a principal causa de aparecimento do fungo surge normalmente no campo e é devida à invasão da planta pelo fungo antes do processo de colheita (Miller, 1994).

A invasão da cultura pode ocorrer de quatro formas diferentes, consoante o tipo de fungo e o hospedeiro (Miller, 1994):

- I) Fungos patogênicos das plantas, ex: *Fusarium graminearum*.
- II) Fungos que crescem e produzem micotoxinas em plantas senescentes ou em condições de stress, ex: *Fusarium moniliforme* e *Aspergillus flavus*.
- III) Fungos que iniciam a colonização da planta e a predispõem a uma contaminação por micotoxinas após a colheita, ex: *Aspergillus flavus*.
- IV) Fungos que se encontram no solo ou no material depositado no solo e que resultam da senescência da planta, proliferando mais tarde se as condições de armazenamento o permitirem, ex: *Penicillium verrucosum* e *A. Ochraceous*.

### *Fusarium graminearum* e espécies relacionadas

Os fungos *F. graminearum*, *F. culmorum* e *F. crookwellense* são espécies relacionadas que produzem tricotecenos (desoxinivalenol, nivalenol e zearalenona), consoante a sua origem geográfica (Miller *et al*, 1991). Estes fungos causam giberela ou fusariose da espiga (a espiguetas doente exibe sintomas de branqueamento prematuro, logo após a infecção e produz micotoxina) em pequenos grãos e podridão rosada da espiga no milho (Figura 2.13).

Este tipo de doenças está associado com a temperatura das regiões produtoras de cereais, sendo a espécie dominante dependente da temperatura.



**Figura 2.13 – Aspecto de espiga de milho afectada pelo fungo *F. graminearum* – Fonte:** (Univ. Kentucky, 2012.)

A patogenicidade também varia com as espécies, sendo a *F. graminearum* considerada como a mais virulenta. Porém qualquer uma das três pode provocar danos graves na cultura.

O milho, o trigo e a cevada representam mais de metade da produção mundial de cereais e são as culturas mais afectadas pela fusariose ou podridão da espiga. A aveia, o centeio e o triticale também têm sido reportados como hospedeiros de *Fusarium*, sofrendo de micotoxicoses (Chelkowski, 1989 e Scott, 1989).

Enquanto *F. graminearum* está associada a cereais que se desenvolvem em regiões quentes, *F. culmorum* surge frequentemente em regiões com temperaturas mais baixas.

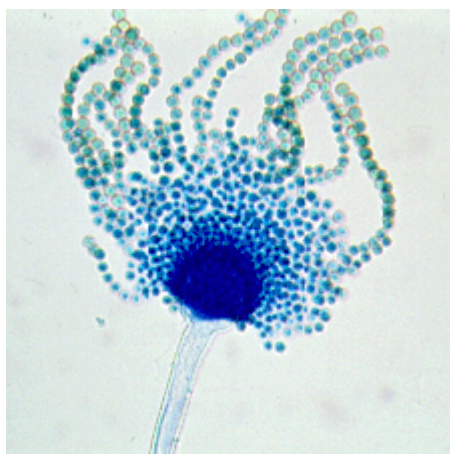
### ***Fusarium moniliforme* e espécies relacionadas**

Os fungos mais frequentemente associados ao milho são *Fusarium moniliforme* e *F. proliferatum*. Estas espécies produzem fumonisinas que são potentes fitotoxinas causadoras de perda de electrólitos e que interferem com a formação de esfingolípidos complexos (Abbas *et al*, 1993).

Tanto *F. moniliforme* como *F. proliferatum* provocam podridão do colmo e estão associadas a regiões com climas secos e temperados e à presença de danos causados por insectos (Shurtleff, 1980).

### ***Aspergillus flavus* e *A. parasiticus***

Os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* estão associados à produção de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 (Figura 2.14). Existem outros fungos do mesmo género, ex *Aspergillus nomius* e *A. pseudotamari* que também produzem aflatoxinas, contudo não têm tanta expressão. (Bennet & Klich, 2003)



**Figura 2.14 – *Aspergillus flavus* causador de contaminação por aflatoxinas – Fonte: (Mycology Online, 2012 ).**

Estes fungos atacam sobretudo cereais, frutos secos, tais como amendoins e outros alimentos (Miller, 1994). A sua presença em milho e arroz é um flagelo a nível internacional, uma vez que são alimentos consumidos em todo o mundo e no caso do arroz serve de alimento base para a refeição de cerca de 60% da população mundial.

Existem três formas possíveis de contaminação: no campo, na altura da colheita e durante o processo de armazenamento.

### ***Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus***

O fungo *Penicillium verrucosum* e o *Aspergillus ochraceus* são os principais produtores da ocratoxina A. esta micotoxina é típica de regiões onde o clima é temperado, nomeadamente no Norte da Europa. Ao contrário das micotoxinas já referidas, a ocratoxina A é exclusiva de situações de armazenamento, pelo que é indicado manter uma higienização cuidada e reduzir ao mínimo a possibilidade de existência de inóculo (IARC, 1993).

Os alimentos mais frequentemente contaminados com ocratoxina A são os cereais, o café, o vinho, frutos secos e outros alimentos (Khoury e Atoui, 2010).

## **2.3 - Toxicidade**

Os piores efeitos que as micotoxinas podem causar no Homem estão essencialmente associados a toxicidade crónica, pelo que se torna difícil associá-los ao consumo de alimentos contaminados. Os principais sintomas que normalmente se associam são a indução de carcinogénese, depressão do sistema imunitário e lesões a nível do sistema renal, sistema nervoso e endócrino (WHO-IARC, 1993).

O estudo das micotoxinas é muito importante devido à sua elevada toxicidade e ainda devido ao crescente aumento de medidas legislativas no que toca ao teor de micotoxinas em diferentes alimentos.

A dificuldade de não se conseguir estabelecer uma relação directa entre a ingestão de micotoxinas e o aparecimento das suas consequências a nível da saúde leva a que a determinação das doses

máximas de micotoxinas que se podem ingerir sem causar riscos para o consumidor seja difícil de determinar (Zain, 2010, Wood, 1992).

Se essas micotoxinas estiverem presentes em níveis elevados na dieta do indivíduo, poderão levar a problemas agudos de saúde no indivíduo, ou mesmo causar a morte. No caso de estarem presentes em teores mínimos, mas a sua presença se fizer sentir de uma forma continuada, poderão manifestar-se sintomas crónicos mais tarde. A exposição prolongada a baixos níveis de micotoxinas pode manifestar-se de forma oculta e sub-reptícia, causando sintomas como atrasos de crescimento, maior susceptibilidade a doenças, imunidade debilitada, problemas hormonais, problemas neurotóxicos e outros problemas crónicos de saúde, suscitando o interesse por parte de várias organizações a nível internacional, por se tratar de uma questão de saúde pública (Zain, 2010, Peraica *et al.*, 1999; D'Mello & McDonald, 1997).

As micotoxinas pertencem ao grupo dos produtos carcinogénicos para humanos mais potente que existe, ou seja, os de classe 1 – “Carcinogénicos para Humanos”, segundo a designação da IARC (1993), pelo que constituem uma fonte de severidade em lesões crónicas que apresenta um risco bastante elevado. Apesar de estas substâncias serem contaminantes naturais, não há evidência acerca da existência de adaptação ou tolerância maior a estas do que a contaminantes antropogénicos, tais como os pesticidas e os aditivos (Kuiper-Goodman, 1995).

Os vários sintomas e consequências mais comuns para os diferentes tipos de micotoxinas já foram apresentados na tabela 2.1.

## 2.4 – Alimentos contaminados com micotoxinas – Ocorrências

As micotoxinas podem ser encontradas numa grande variedade de matrizes, tais como: cereais, especiarias, amendoins, frutas e vegetais, carne, leite, ovos, bebidas (cerveja, vinho), alimentos para animais, entre outros. Na figura 2.15 apresenta-se um exemplo de colheita de amostras para testar a presença de micotoxinas.



**Figura 2.15 – A amostragem de grãos para teste da presença de micotoxinas representa parte do custo da mercadoria – Fonte: (apsnet, 2012)**

Existem micotoxinas que são mais frequentes em determinados alimentos do que noutros. Na tabela 2.2 apresentam-se alguns exemplos de casos detectados e apresentados em estudos científicos.

**Tabela 2.2 – Apresentação de casos de micotoxinas encontradas em diversos alimentos e respectivas percentagens de amostras positivas detectadas.**

<b>Micotoxina</b>	<b>Matriz</b>	<b>Percentagem de amostras positivas (%)</b>	<b>Referência bibliográfica</b>
<b>Aflatoxina B1</b>	Arroz	68-82%	Reddy <i>et al.</i> , 2008
		43%	Bansal <i>et al.</i> , 2011
		32-64%	Osman <i>et al.</i> , 1999
		30%	Reiter <i>et al.</i> , 2010
		97%	Liu <i>et al.</i> , 2006
	Milho	97%	Liu <i>et al.</i> , 2006
	Trigo	59%	Giray <i>et al.</i> , 2007
	Amendoins	51%	Midio <i>et al.</i> , 2001
	Paprika	16%	European Commission (1997)
	Pimenta	34%	European Commission (1997)
	Chili	29%	European Commission (1997)
	Noz-moscada	61%	European Commission (1997)
<b>Citrinina</b>	Cereais	38%	Zaied <i>et al.</i> , 2012
	Comida chinesa à base de arroz	4,0%	Dabkevicius & Semaskiene, 2001
<b>Ergotamina</b>	Centeio	62%	Schwarz & Neate, 2006
	Cevada	4%	Dabkevicius & Semaskiene, 2001
		4,7%	Dabkevicius & Semaskiene, 2001
	Triticale		
<b>Fumonisin</b>	Milho	25-48%	Yoshizawa <i>et al.</i> , 1994
		70%	Yoshizawa, 1996
	Milho armazenado	95%	Queiroz <i>et al.</i> , 2012
	Arroz	15%	Bansal <i>et al.</i> , 2011
	Cevada	83%	Pereyra <i>et al.</i> , 2011
<b>Ocratoxina</b>	Cereais	22%	Juan <i>et al.</i> , 2008
		38%	Zaied <i>et al.</i> , 2009
	Derivados de cereais	38%	Kabak, 2009
	Uvas	45%	Lucchetta <i>et al.</i> , 2010
	Café	69%	Drunday & Pacin, 2012
	Vinho	68%	Spadaro <i>et al.</i> , 2010
		2,9%	Vega <i>et al.</i> , 2012
	Cerveja	14%	Kabak, 2009
<b>Patulina</b>	Sumos de maçã (sumos)	20%	Barreira <i>et al.</i> , 2010
	(néctares)	24%	Barreira <i>et al.</i> , 2010
	(sumo)	13%	Katleen <i>et al.</i> , 2006
	Cidra	28,4%	Harris <i>et al.</i> , 2009
<b>Tricotecenos: ex: desoxinivalenol</b>	cereais	30%	Mishra <i>et al.</i> , 2012
	Cereais processados	9%	Omurtag & Beyoglu, 2010
	Trigo	84-86%	Pronk <i>et al.</i> , 2002
	Trigo duro	83%	Bensassi <i>et al.</i> , 2010
<b>Zearalenona</b>	Milho armazenado	95%	Queiroz <i>et al.</i> , 2012
	Trigo	75%	Zaied <i>et al.</i> , 2012

A tabela 2.2 apresenta valores para vários alimentos onde ocorreu a presença de micotoxinas. A maioria das amostras foram recolhidas em supermercados e uma parte considerável das amostras apresenta-se contaminada.

Apesar de detectada a presença de micotoxinas numa percentagem considerável de alimentos, em muitos dos casos esses valores apresentam-se abaixo do limite máximo admissível (LMA), contudo, apenas é apresentada a proporção de casos positivos. Não é de descurar o controlo destes contaminantes, uma vez que estes apresentam elevada toxicidade. Nalguns casos, o seu teor pode aumentar em situações de armazenamento, como é o caso das aflatoxinas, chegando ao mercado com valores acima do limite máximo admissível, o que é preocupante em alimentos como os cereais que constituem a base da alimentação humana.

## **2.5 - Limites máximos admissíveis de micotoxinas em Cereais na União Europeia**

Na tabela que se encontra no ANEXO I, apresentam-se os limites máximos admissíveis de micotoxinas para cereais na União Europeia, de acordo com o regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006.

Estes são os valores máximos admissíveis na União Europeia para a presença de micotoxinas em cereais. Para países fora da União existem outros valores máximos estabelecidos legalmente e noutros casos não existe mesmo legislação que regule este aspecto. Esta situação pode ser consultada no "Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003" (FAO, 2003).

## **2.6 - Prevenção da contaminação de cereais por micotoxinas**

A melhor forma de evitar a presença de micotoxinas nos alimentos é a prevenção da contaminação da cultura ou do produto armazenado com fungos toxigénicos, pois são estes os responsáveis pelo seu aparecimento.

A Comissão Codex Alimentarius (WHO-FAO) estabeleceu em 2003 um Código de boas práticas para prevenção e redução de contaminação de cereais por micotoxinas, incluindo anexos sobre ocratoxina A, zearalenona, fumonisinas e tricotecenos. Esse código devia ser aceite como um guia para prevenir e controlar a contaminação por micotoxinas em cereais.

Como aspecto fundamental, o código salienta a necessidade de os produtores compreenderem e aceitarem a importância das boas práticas agrícolas como ponto de partida contra a contaminação por micotoxinas. Para tal, é necessário que as autoridades nacionais tomem as seguintes medidas:

- dar formação aos produtores no sentido de estes terem em conta as condições ambientais e a maior predisposição para a contaminação por fungos toxigénicos.
- criar métodos mais rápidos e eficientes para detecção da presença de micotoxinas e planos de amostragem de fácil utilização no terreno.
- investir em pesquisa científica no sentido de desenvolver métodos e técnicas de prevenção da contaminação por fungos, tanto no campo, como no momento da colheita ou durante o armazenamento.

## Referências Bibliográficas:

- ApSimon, J.W., Blackwell, B.A., Blais, L., Fielder, D.A., Greenhalgh, R., Kasitu, G., Miller, J.D. and Savard, M. (1990). Mycotoxins from *Fusarium* species: detection determination and variety. Pure Appl. Chem. 62: 339-346.
- Bennett, J.W., Klich, M. (2003) Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16: 497–516.
- King B. (1979) Outbreak of ergotism in Wollo, Ethiopia. Lancet, volume:1: 1411 p.
- Anderson, S. J. (1995) Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. J. Food Protect. 58: 426–429.
- Battalglia R., Hatzold T., Kroes R. (1996) Guest Editorial: Conclusions from the Workshop on Ochratoxin in Food (ILSI Europe, Aix-en-Provence, 10-12 January 1996), Food Additives and Contaminants, 13, Supplement, 1-3.
- Burda, K. (1992) Incidence of in apple, pear, and mixed fruit products marketed in New South Wales. Journal of Food Protection, 55: 796-798.
- Chelkowski J. (1989) Formation of mycotoxins produced by *Fusarium* in heads of wheat, triticale and rye. In *Fusarium Mycotoxins, Taxonomy and Pathogenicity* (Edited by Chelkowski J.) 63-84. Elsevier, Amsterdam.
- Codex alimentarius commission (CAC) (2003) Code of Practice For The Prevention and Redution of Mycotoxin Contamination in Cereals, ALINORM 03/12A: 108-115.
- Flieger, M., Wurst, M., Shelby, R. (1997) Ergot Alkaloids -- Sources, Structures and Analytical Methods. Folia Microbiol. 42 (1), 3-30 Review.
- Frémy, J.M.; Castegnaro, M.J.J.; Gleizes, E.; De Meo, M.; Laget, M. (1995). Procedures for destruction of patulin in laboratories wastes. Food Additives and Contaminants, 12 (3): 331-336.
- Gautam, P. and Dill-Macky, R. (2011) Type I host resistance and Trichothecene Accumulation in *Fusarium*-infected Wheat Heads. American Journal of Agricultural and Animal Sciences 6 (2):231-241.
- Gautam, P. and Dill-Macky, R. (2012a) Impact of moisture, host genetics and *Fusarium graminearum* isolates on *Fusarium* head blight development and trichothecene accumulation in spring wheat. Mycotoxin Research 28 (1): 45-58.
- Gautam, P., Dill-Macky, R. (2012b) Free Water Can Leach Mycotoxins from *Fusarium*-infected Wheat Heads - J Phytopathol 160: 484–490.
- Genevieve S. Bondy, James J. Pestka. (2000) Immunomodulations by fungal toxins, Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews, 3 (2): 109-143.
- Hussein, H. S.; Brasel, J. M. (2001) Review: toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167 (2): 101-134.
- IARC (1993) Summaries & Evaluations – Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. crooxwellense*: zearalenone, deoxynivalenol and fusarenone x, 3 (56) 397p.

- James J. Pestka & Alexa T. Smolinski (2005) Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 8 (1): 39-69.
- Kuiper-Goodman, T. (1995) Mycotoxins: risk assessment and legislation. *Toxicology Letters* 82/83. 853-859.
- Massey, T. E., Stewart, R.K., Daniels, J.M. & Ling, L. (1995) Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.*, 208: 213-227.
- Matossian M. K. (1989) *Poisons of the Past*. Yale University Press, New Haven, CT. 208 p.
- Miller, J. D. (1995) Review Fungi and Mycotoxins in Grain: Implications for Stored Product Research *J. stored Prod. Res.* 31 (1): 1-16.
- Miller, J. D. (1991) Significance of grain mycotoxins for health and nutrition. *ACIAR Proc.* 36: 126-135.
- Moss, M. (1996) Mycotoxins – centenary review. *Mycol. Res* 100 ( 5 ): 13-523.
- Moss, M. (2002) Mycotoxin review – 1. *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologist*, Volume 16, Part 3 August.
- Nesbitt, B. F., O'Kelly, J., Sargeant, K., Sheridan, A. (1962) *Aspergillus flavus* and turkey X disease. Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature*. 195: 1062-1063.
- Osweder, G. D. (2001) Mycotoxins. *Vet Chn North Am Equine Pract* 17 :547- 566.
- Peraica, M., Radic, B., Lucic, A., Pavlovic, M. (1999) Toxic effects of mycotoxins in humans - *Bulletin of the World Health Organization* 77 (9): 754-766.
- Plessi, M.; Bertelli, D.; Monzani, A. (1998) Valutazione del contenuto di patulina in prodotti per la prima infanzia a base di mela. *Rivista Scienza Alimentazione*, 27: 237-243.
- Ross PF, Rme LG, Reagor JC. (1991) Fumonisin B1 concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J Vet Diagn Invest* 3: 238-241.
- Scott, P. M. (1989) The natural occurrence of trichothecenes. In *Trichothecene Toxicosis: Pathophysiological Effects*, CRC Press, Boca Raton, FL. Vol. I. (Edited by Beasley V. R.). 2-26.
- Sweeney, M. J, Dobson, Alan D.W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species – review - *International Journal of Food Microbiology* 43: 141–158.
- Sylos, C.M., Rodriguez-Amaya, D.B. (1999). Incidence of patulin in fruits and fruit juices marketed in Campinas, Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 16, 71-74.
- Wayne L. Bryden (2012) Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security - *Animal Feed Science and Technology* 173: 134– 158.
- Zinedine, A., Soriano, J.M., Molto, J.C, Manes, J. (2007) Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology* 45: 1–18.



- Zinedine, A.; Soriano, J.; Molto, J.; Man. J. (2007) Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin; Food and Chemical Toxicology; 45: 1–18.

**- Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:**

- Fórmulas e estruturas químicas de compostos. Boston Biochem. Tocris Bioscience:  
<http://www.tocris.com/disprod.php?ItemId=268763>

- Fórmulas e estruturas químicas de compostos. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

- Fórmulas e estruturas químicas de compostos. <http://www.fermentek.co.il>

- The American Phytopathological Society: <http://www.apsnet.org>

- International Agency for Research on Cancer – IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Classifications. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>

- Mycotoxins regulations in 2003 and current developments. (2003) Agriculture and Consumer protection. FAO Corporate Document Repository:  
<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>

- European Mycotoxins Awareness Network. Factsheets.  
<http://services.leatherheadfood.com/mycotoxins/display.asp?factsheetid=6&noback=yes&strFilter=Aflatoxin>

- College of Agriculture – University of Kentucky - <http://www2.ca.uky.edu/>

- Aspergillus, (2012). Hyphomycetes. Fungal Descriptions. Mycology Online. The University of Adelaide: <http://www.mycology.adelaide.edu.au>

## CAPÍTULO III

### 3. - Aflatoxinas B1, B2, G1 e G2

#### 3.1 - Aflatoxinas – introdução

O problema da contaminação de alimentos com aflatoxinas, tanto para humanos, como para animais, tem causado bastante preocupação nas últimas três décadas. A incidência frequente destas toxinas nos produtos de origem agrícola tem um impacto muito negativo na economia das regiões afectadas, principalmente nos países em vias de desenvolvimento, onde as técnicas de colheita e os cuidados pós-colheita para prevenção do desenvolvimento de fungos nem sempre são postos em prática (Rustom, 1996).

As aflatoxinas são compostos altamente tóxicos, mutagénicos, teratogénicos e carcinogénicos que têm sido considerados como agentes causadores de carcinogénese hepáticas e extra-hepáticas em humanos (Massey *et al.*, 1995). Existem estudos epidemiológicos que fazem referência à nocividade das aflatoxinas e que as relacionam com a incidência de casos de cancro do fígado em populações expostas a alimentos contaminados com este tipo de toxina (Shank *et al.*, 1972; Peers & Linsell, 1973; Dichter, 1984; Groopman *et al.*, 1988). A contaminação humana com aflatoxinas resulta directamente da exposição a alimentos contaminados, ou indirectamente quando proveniente do consumo de leite de animais contaminados pela sua alimentação (Pereira *et al.*, 2005).

As aflatoxinas são metabolitos secundários produzidos por espécies de fungos do género *Aspergillus*, mais especificamente, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *A. nominus*, que se encontram difundidos em qualquer parte do mundo, tanto no ar como no solo, infestando plantas vivas e mortas e também animais que se alimentam de plantas contaminadas (Moss, 1998).

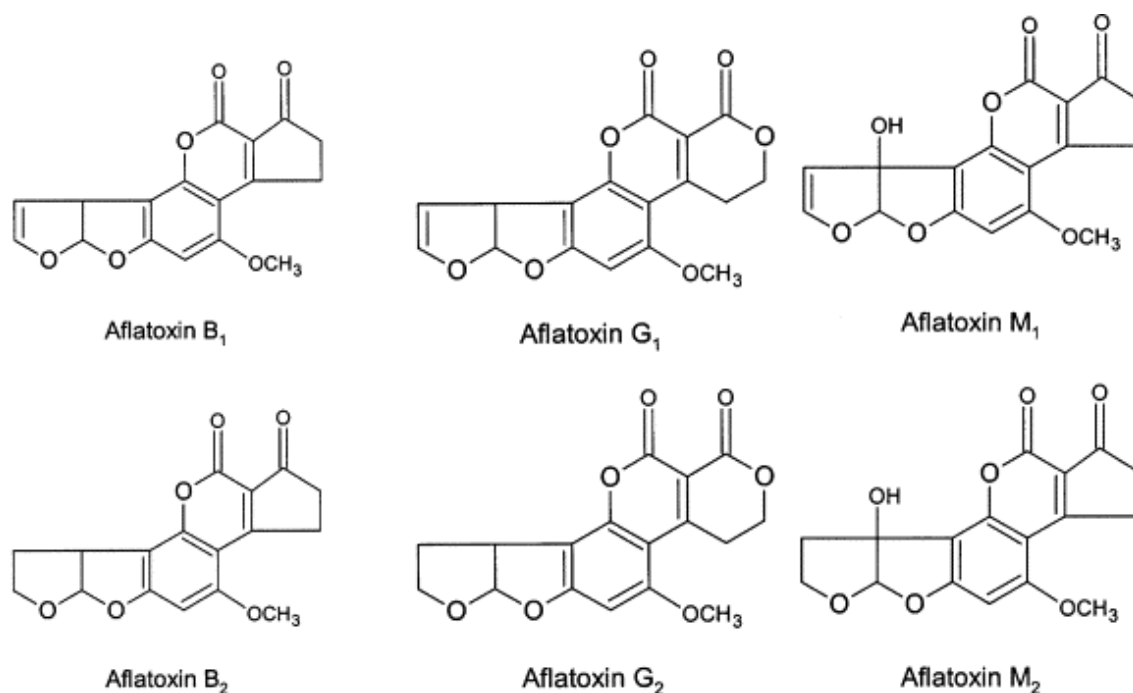
A descoberta das aflatoxinas remonta à década de 1960, após um surto grave da doença X do peru no Reino Unido, do qual resultou a morte de mais de 100.000 perús e outros animais. A causa da doença foi atribuída à alimentação que continha amendoins de proveniência brasileira que estavam infestados com *A. flavus*. Foram efectuadas análises subsequentes a esses alimentos usando cromatografia em camada fina, que revelou uma série de compostos com fluorescência, que mais tarde foram designados por aflatoxinas. Mais tarde concluiu-se que esses compostos foram responsáveis pelo surto da doença X do peru (Sargeant *et al.*, 1962; Davis & Diener, 1979).

A designação da palavra aflatoxina, um acrónimo, resulta da junção da letra “A” que designa o género *Aspergillus* com o conjunto das letras “FLA”, que significa a espécie *flavus* e a palavra “TOXINA”, que significa veneno (Ellis *et al.*, 1991).

#### 3.2 - Características físicas e químicas das aflatoxinas

Existem mais de 20 tipos de aflatoxinas e seus derivados, no entanto os principais tipos estudados são a B1, B2, G1 e G2 (Hussein & Brasel, 2001).

A estrutura química das aflatoxinas é muito semelhante entre si, pois são compostos químicos simples e de baixo peso molecular, sendo que todas apresentam um núcleo central cumarínico ligado a uma estrutura bi-furanóide (Figura 3.1).



**Figura 3.1 – Fórmula química das principais aflotoxinas. Fonte: M. E. Zain, (2010).**

As aflatoxinas B apresentam um anel ciclopentona na molécula, ao passo que as aflatoxinas G apresentam um anel lactona.

Tal como outros compostos heterocíclicos, as aflatoxinas são substâncias que apresentam fluorescência sob luz ultra-violeta com características específicas. Tanto a aflatoxina B1 (AFB1), como a aflatoxina B2 (AFB2) apresentam fluorescência azul, enquanto a aflatoxina G1 (AFG1) e a aflatoxina G2 (AFG2) apresentam fluorescência verde amarelada, derivando daí a sua designação, sendo que B significa “Blue” (azul) e G significa “Green” (verde) (Hussein & Brasel, 2001); (Molina *et al.*, 2010).

Segundo Coulombe (1991), apesar de existirem semelhanças estruturais, as aflatoxinas apresentam diferentes graus de actividade biológica. A AFB1 é de longe, a mais frequentemente encontrada em cereais e também a que apresenta maior toxicidade, seguida das AFG1 e AFB2 e AFG2. Segundo Molina *et al* (2010), o seu grau de toxicidade varia da seguinte forma B1 > G1 > B2 > G2, significando “1”, uma maior e “2” uma menor toxicidade.

A Aflatoxina B1 é a mais tóxica, tanto em casos de aflatoxicose aguda como crónica. Terao e Ueno (1978) demonstraram que a magnitude da toxicidade das toxinas AFG2, AFB2 e AFG1 é menor, correspondendo a 10%, 20% e 50% da aflatoxina B1, respectivamente.

A aflatoxina M1 resulta da biotransformação da AFB1 no fígado de animais, incluindo o Homem e que é excretada pelo leite (Hussein & Brasel, 2001; Pereira *et al.*, 2005).

As aflatoxinas podem ser classificadas como compostos de natureza cristalina, termoestáveis e solúveis em solventes polares. Além disso, são totalmente destruídas na presença de soluções alcalinas fortes, como a amónia ou o hipoclorito (Opas, 1983).

Na Tabela 3.1 apresentam-se as principais características físicas e químicas das aflatoxinas mais importantes na saúde humana e animal.

**Tabela 3.1 – Características físicas e químicas das principais aflatoxinas - Fonte: OPAS, 1983.**

Aflatoxina	Fórmula química	Massa molecular	Temperatura de fusão °C	Emissão de fluorescência (nm) e cor sob luz UV
AFB1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	269	425 – azul
AFB2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289	425 – azul
AFG1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246	450 – verde
AFG2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240	450 – verde
AFM1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299	425 – violeta azulada
AFM2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293	425 – violeta
Aflatoxicol	$C_{17}H_{14}O_6$	314	230-234	425

### 3.3- Condições para a contaminação

A contaminação dos produtos vegetais ocorre através do contacto com os esporos do fungo, presentes no ambiente, sobretudo no solo, durante os procedimentos de colheita e secagem. A utilização de práticas agrícolas incorrectas, que prolongam o contacto dos produtos com o solo, as lesões na superfície dos grãos, provocadas por insectos ou outros animais (aves ou roedores), o armazenamento inadequado, em locais húmidos e sem ventilação, são apontados como as principais causas que favorecem a contaminação e o desenvolvimento de fungos toxigénicos (Chu, 1991).

Os fungos toxigénicos são conhecidos por produzirem um ou mais desses metabolitos secundários. No entanto, sabe-se que nem todos os fungos são toxigénicos e nem todos os metabolitos secundários dos fungos são tóxicos (Hussein & Brasel, 2001).

O crescimento do *A. flavus* e a produção de aflatoxinas nos seus substratos naturais são influenciados por diversos factores, como os componentes minerais e a actividade da água do substrato, humidade ambiental, temperatura e os danos físicos presentes no substrato (Viquez *et al.*, 1994).

Apesar das maiores concentrações de aflatoxinas serem encontradas em grãos que estão mal armazenados em ambientes quentes e húmidos, também é possível detectar concentrações significantes de aflatoxinas no campo, antes da colheita (Pittet, 1998). O milho e o amendoim continuam a ser as maiores fontes de aflatoxinas principalmente na Índia e América do Sul, porém outros cereais, produzidos em clima tropical, bem como os seus subprodutos também são susceptíveis à contaminação por aflatoxinas (Moss, 1998).

Existem vários estudos que demonstram a presença de aflatoxinas em arroz, em vários países (Reddy *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 2009; Gummert *et al.*, 2009). Outros autores indicam a variedade Basmati proveniente da Índia e do Paquistão, como a mais contaminada (Bansal *et al.*, 2011; Reiter *et al.*, 2010). Se por um lado o clima de certos países asiáticos e a fisiologia da própria planta contribuem, em grande parte para a contaminação por fungos, por outro lado o facto de estas variedades permanecerem muito tempo armazenadas para serem posteriormente exportadas, leva a uma maior probabilidade de ocorrência de contaminação (Nguyen *et al.*, 2007).

### 3.4 - Toxicidade e Carcinogenicidade das aflatoxinas

Aflatoxicose é o termo utilizado para definir qualquer enfermidade causada aos homens e animais pela exposição às aflatoxinas. Os quadros tóxicos variam de acordo com a aflatoxina, seu efeito dose-dependente, espécie animal e até mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie. A aflatoxicose é caracterizada por estar relacionada com a alimentação, não é contagiosa, não é infecciosa e é sempre provocada por toxinas produzidas por fungos (Hussein & Brasel, 2001).

Várias espécies animais domésticas, bem como de experimentação são sensíveis aos efeitos tóxicos das aflatoxinas (Zain, 2011; Hussein & Brasel, 2011; Osweiler, 1990). No caso do homem, as aflatoxinas são consideradas como factores envolvidos na etiologia do cancro hepático, como consequência da contaminação por alimentos com presença destes metabolitos (Hsieh & Atkinson, 1991).

A relação dose-efeito pode variar com a raça, a idade, o sexo, a dieta, entre outros factores (Coulombe, 1991). Em muitas espécies, os machos são mais sensíveis que as fêmeas e os jovens mais que os adultos (Leeson *et al*, 1995).

No caso de aflatoxicose aguda, os principais sintomas verificados em estudos efectuados para AFB1 são: rápida deterioração do estado geral do animal, perda de apetite, hepatite aguda, icterícia, hemorragias e morte (Osweiler, 1990). O principal órgão afectado é o fígado, apresentando lesões que decorrem de necrose hemorrágica, congestão centrolobular, proliferação de células dos ductos biliares e infiltração gordurosa dos hepatócitos (Leeson *et al*, 1995).

No caso da aflatoxicose crónica com AFB1, o sinal clínico mais evidente é a diminuição da taxa de crescimento, no caso dos animais jovens. Verificam-se também efeitos de imunossupressão, redução da contagem de linfócitos T, diminuição da produção de imunoglobulinas, diminuição da fagocitose e diminuição da resistência (Leeson *et al*, 1995). Os efeitos da aflatoxicose crónica também se caracterizam por lesões hepáticas, apesar de serem em menor escala, e incluem cancro hepático, bem como alterações genéticas (Osweiler, 1990).

O carcinoma hepatocelular (CHC) é um dos tipos mais comuns de cancro a nível mundial. Entre os factores identificados como possíveis causadores desta enfermidade, destacam-se as aflatoxinas e o vírus da Hepatite B (HBV), tendo sido reportada a presença de aflatoxinas em biopsias de fígado de doentes com cancro hepático (Harris, 1991). No entanto, deve ter-se em consideração que existe dificuldade em considerar as aflatoxinas como os agentes causadores de envenenamento no ser humano depois da ingestão de alimentos contaminados, pois podem coexistir outros factores causais. Não é de descurar a interferência de outros aspectos, como por exemplo: hepatite viral, alcoolismo, parasitas, má alimentação e diversos contaminantes.

Vários trabalhos experimentais que derivam da extrapolação para o homem de resultados obtidos em estudos de biotransformação, mutagenicidade e carcinogenicidade, tanto em animais, como *in vitro* levam a crer que as aflatoxinas constituem um factor de risco para o carcinoma hepatocelular. No caso de estudos epidemiológicos com seres humanos, verifica-se que em áreas geográficas onde a contaminação por aflatoxinas é frequente, existe uma incidência de cancro de fígado mais acentuada (Oliveira & Germano, 1997). Os resultados de alguns desses trabalhos, onde se verificou uma forte correlação entre a incidência de cancro hepático e o grau de exposição a aflatoxinas apresenta-se na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2 – Relação entre a ingestão de AFB1 (excluídas outras causas) e a incidência de CHC, em países de África e Ásia. – Fonte: (Oliveira & Germano, 1997).**

<b>País</b>	<b>Ingestão de AFB1 (µg/kg/dia)</b>	<b>Incidência do CHC (por 100.000/ano)</b>	<b>Fonte</b>
<b>Quênia</b>	3,5	1,2	Linsell e Peers, 1997
	5,9	2,5	
	10,0	4,0	
<b>Moçambique</b>	20,3	5,9	Van Rensburg <i>et al</i> , 1985
	8,63	5,0	
	77,7	12,1	
	86,9	9,0	
	87,7	15,5	
	131,4	17,7	
	183,7	14,0	
<b>Swazilândia</b>	11,4	5,7	Peers <i>et al</i> , 1987
	14,3	2,9	
	18,6	6,1	
	32,9	11,1	
	38,6	5,7	
	40,0	9,2	
	42,9	19,6	
	72,9	23,7	
	127,1	22,4	
<b>República Popular da China</b>	158,6	24,9	Yeh <i>et al</i> , 1989
	21,0	175,4	
	157,0	182,2	
	1232,0	288,5	
<b>Transkei</b>	3545,0	613,5	Van Rensburg <i>et al</i> , 1990
	5,1	5,3	
	18,0	3,2	
	19,6	9,0	
	23,2	10,3	

Apesar dos dados da Tabela 3.2 levarem a concluir que existe uma forte correlação entre os valores indicados, não se pode caracterizar completamente a relação dose-resposta para as aflatoxinas no homem, pois em situações de estudos epidemiológicos, o grau de exposição não é preciso, visto que sofre interferência de outros factores ambientais. Além disso, o grau de exposição foi estimado a partir de níveis de contaminação por AFB1 na dieta de populações e não na dose efectivamente ingerida pelo indivíduo, como acontece em estudos de ensaios com animais (Oliveira & Germano, 1997).

Actualmente, a comunidade científica, de modo geral, considera que a etiologia do carcinoma hepatocelular é multifactorial, actuando as aflatoxinas como factores iniciadores do processo, que leva a um fenótipo transformado. O processo de carcinogénese desenvolver-se-ia posteriormente pela acção do HBV que teria um efeito promotor no desenrolar do processo (Wogan, 1992).

### 3.5 - Inactivação das aflatoxinas

A contaminação antes da fase da colheita pode ser reduzida através da introdução de boas práticas de produção e armazenamento que limitem o desenvolvimento de fungos aflatoxigénicos. A contaminação pós-colheita pode ser minimizada pela aplicação de uma cura apropriada, secagem, classificação e procedimentos de armazenamento. Porém, por vezes a contaminação é inevitável e continua a ser um problema sério associado a culturas muito importantes, o que enfatiza a necessidade de desenvolver um processo adequado para a inactivação da toxina ou reduzi-la a um valor tão exíguo que não constitua perigo para a saúde (Rustom, 1997).

Qualquer que seja o processo para a inactivação das toxinas, ele deve cumprir vários requisitos, tais como:

- i) Não deve resultar na formação de outras substâncias tóxicas ou deixar resíduos nocivos que coloquem em causa a segurança alimentar do produto em causa;
- ii) A qualidade nutricional do produto não deve ser afectada;
- iii) Não deve afectar de modo adverso as propriedades sensoriais e as características físicas inerentes ao produto;
- iv) Deve ser economicamente viável e tecnicamente aplicável;
- v) Deve ter capacidade para destruir os esporos e o micélio dos fungos aflatoxigénicos, caso eles estejam presentes no produto, os quais poderão proliferar e produzir a toxina, se as condições forem favoráveis (Jemmali, 1989; Ellis *et al.*, 1991, Park & Liang, 1993).

Existem vários métodos para inactivar as aflatoxinas que cumprem os requisitos descritos. Actualmente, os processos mais utilizados na indústria são a amonificação e o tratamento com bissulfito de sódio. Existem também microorganismos, tais como bactérias e fungos que produzem ácidos que apresentam capacidade para metabolizar e inactivar as aflatoxinas, sendo o *Fusarium aurantiacum* conhecido como o organismo mais activo (Rustom, 1996).

Segundo Park & Liang (1993), a inactivação das aflatoxinas através da produção de ácido por um microorganismo, deve-se à conversão de AFB1 em AFB2, que apresenta uma mutagenicidade cerca de mil vezes inferior à primeira.

Certos métodos físicos tais como extracção com solventes, adsorção, temperatura elevada (237°C a 306°C), radiação com UV, raios Gama ou luz solar, podem ser utilizados para inactivar as aflotoxinas. Porém, não é possível estabelecer um método único para todos os alimentos, quer para humanos, quer para animais. A eficiência de um método para inactivar aflatoxinas depende, em grande medida, da natureza do alimento, do seu teor de humidade, do tipo de aflatoxina presente, do nível de contaminação e do grau de associação com os constituintes alimentares (Rustom, 1996).

### 3.6 - Prevenção da ocorrência de aflatoxinas em produtos armazenados

O desenvolvimento de fungos em produtos armazenados pode ser limitado se forem tomadas algumas medidas de prevenção. Algumas dessas medidas devem ser tomadas como se indica (Sweets, s/d):

- efectuar a colheita assim que o teor de água permita a diminuição dos prejuízos nos grãos. Secá-los de seguida, de modo que os teores de água residual possam ser considerados seguros para o produto;

- assegurar a limpeza de todo o equipamento e estruturas para o armazenamento do produto. Remover poeiras, grãos danificados, materiais estranhos, tais como: restos de plantas ou de insectos mortos;
- proteger os grãos a armazenar contra pragas de insectos e ácaros, através de métodos químicos e físicos;
- inspecionar regularmente os grãos, promovendo o arejamento, caso seja necessário. Os valores de temperatura e humidade relativa devem ser mantidos em níveis que sejam desfavoráveis ao desenvolvimento de fungos.

Os produtos armazenados quer, sejam processados ou não, estão expostos à contaminação por fungos, que pode ocorrer no campo, pós-colheita, durante o transporte ou armazenamento, ou na fase de consumo. A adopção de estratégias de prevenção torna-se determinante como forma de impedir a germinação e o desenvolvimento desses fungos (Sweets, s/d).

### **3.7 - Métodos analíticos para determinação de aflatoxinas**

#### **i) Métodos de preparação da amostra e pré-concentração**

Um dos passos cruciais para a determinação qualitativa e quantitativa de micotoxinas é a preparação da amostra e a pré-concentração.

O método de extracção utilizado para remover a micotoxina da matriz biológica depende da estrutura da toxina. As aflatoxinas são compostos hidrofóbicos, logo é necessário utilizar solventes orgânicos (Holcomb *et al.*, 1992; Turner *et al.*, 2009). Nas últimas décadas tem sido dada ênfase à minimização da quantidade de solvente utilizado, principalmente devido à nocividade que os solventes clorados apresentam, tanto para o meio ambiente, como para a saúde (unep, 2010). Além disso, tem-se tentado “miniaturizar” os procedimentos, ou seja, utilizando amostras de menor dimensão, ao mesmo tempo que se mantém a eficiência.

O processo de purificação da amostra afecta a sensibilidade do resultado. Por esse motivo, a elevada especificidade entre o analito e as técnicas de extracção com benefício adicional para a reduzida necessidade de purificação subsequente de extractos tem sido outra área de grande desenvolvimento e aplicação (Scott, 1995).

A selecção do método de preparação da amostra depende de vários factores, sejam eles o tipo da matriz, a natureza dos compostos a analisar (ex: solubilidade, polaridade, volatilidade), da concentração dos compostos na matriz, do método analítico a utilizar (cromatografia líquida, cromatografia gasosa), da facilidade de automatização, do tempo de análise e dos custos que implica. O método habitualmente mais utilizado para efectuar a extracção/purificação de aflatoxinas é o SPE.

#### **Extracção líquido-líquido (LLE)**

A mais antiga, mas ainda frequente técnica de preparação de amostra é a extracção com solvente, no caso dos líquidos chamada de extracção líquido-líquido (LLE). Este método consiste na exploração da diferente solubilidade da toxina, neste caso, em fase aquosa e numa fase orgânica imiscível, de modo a extrair o composto para um solvente, deixando o resto da matriz no outro. As amostras podem ser sólidas ou líquidas.



A extracção com solventes orgânicos é a técnica de extracção mais comum para isolar um analito de uma amostra líquida. A técnica baseia-se na distribuição do analito entre duas fases líquidas imiscíveis. O parâmetro decisivo referente ao rendimento de extracção é o coeficiente de distribuição para o analito entre as fases envolvidas. Se o coeficiente de distribuição for suficientemente elevado, a aproximação mais simples da extracção líquido-líquido é a mistura da amostra com um montante de solvente orgânico apropriado. Com coeficientes de distribuição baixos ou com volumes de amostra elevados é necessária uma extracção contínua ou extracção contracorrente para conseguir uma separação completa. Este método para extracção contínua gera uma fase líquida imiscível com a solução da amostra que circula continuamente através da amostra. Os analitos extraídos são concentrados por destilação a tempos apropriados entre cada ciclo de extracção individual.

As desvantagens da LLE incluem a elevada diluição do extracto que deve ser posteriormente concentrado e uma elevada taxa de consumo de solvente. Ambos os problemas podem ser minimizados empregando técnicas de microextracção.

A LLE é uma técnica eficiente para várias toxinas e resulta bem em preparações em pequena escala (Bauer & Gareis, 1987). Não obstante, é uma técnica morosa e depende da matriz que se está a utilizar e do composto que se pretende determinar.

### **Extracção com fluído supercrítico (SFE)**

Este método utiliza um fluído supercrítico, como o CO<sub>2</sub> para extrair o composto em questão da matriz. O processo resulta do elevado poder de solvatação e densidade do líquido solvatante.

(Young & Games, 1993) utilizaram SFE para extrair toxinas que posteriormente injectaram em cromatografia com colunas capilares de sílica fundida, porém não tiveram sucesso, devido a problemas relacionados com a própria SFE. Esta técnica não é aplicável para análises de rotina, visto que necessita de equipamento especializado e apresenta custos elevados (Zougagh & Rios, 2008).

### **Extracção em fase sólida (SPE)**

A SPE é actualmente uma técnica bastante comum e muito utilizada para extrair, concentrar e purificar analitos de interesse em diversos tipos de matrizes. Esta técnica de preparação de amostra pode ser realizada em cartuchos constituídos por um invólucro ou corpo da coluna, normalmente em vidro ou polietileno e pela fase estacionária que é fixa ao invólucro através de dois mini-discos de polietileno poroso. Estes são utilizados como filtros para reter o suporte sólido da coluna.

Genericamente esta técnica processa-se em quatro etapas: condicionamento da fase estacionária, passagem da amostra, lavagem do material adsorvente, secagem do adsorvente e eluição dos analitos (Almeida *et al.*, 2004).

A extracção em fase sólida (SPE) é utilizada para a separação selectiva e concentração de analitos de amostras líquidas. A extracção de analitos neste caso, é baseada na distribuição de substâncias dissolvidas entre a superfície da fase sólida e a amostra líquida. A separação dos vários constituintes da amostra pode resultar em diferentes polaridades, diferenças no tamanho molecular ou diferenças na capacidade de troca iónica. A SPE relativamente à LLE tem a vantagem de ser realizada mais rapidamente, requerer menos solvente, fornecer extractos mais fortemente concentrados e ser relativamente fácil de automatizar, o que poderá facilitar a reprodutibilidade do sistema e a eficiência da operação.

Nesta técnica podem ser utilizados diferentes adsorventes para extracção em fase sólida à base de sílica-gel, cuja superfície foi modificada de alguma forma.

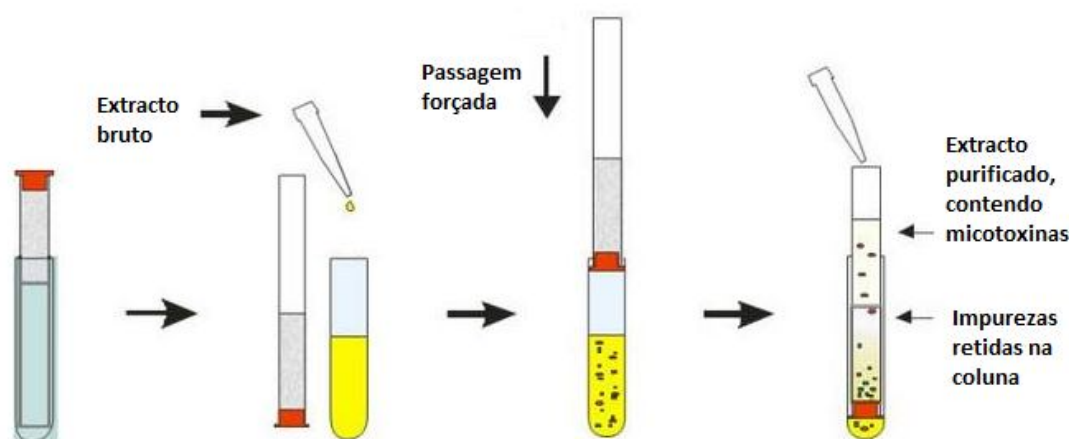
As fases de superfície octadecil ( $C_{18}$ ) são usadas para a extracção em fase reversa de substâncias apolares em soluções aquosas. Algumas aplicações frequentes incluem a extração de pesticidas, aflatoxinas, vitaminas e medicamentos. Fases octil mais “curtas” ( $C_8$ ) são utilizadas para extrair substâncias de polaridade média. As substâncias que se ligam irreversivelmente às fases  $C_{18}$  podem, por vezes ser concentradas e eluídas com as fases  $C_8$ . Esta técnica é a que se utiliza mais frequentemente em análises de micotoxinas para efectuar a purificação e a pré-concentração de extractos.

Inicialmente, a SPE foi desenvolvida para uma gama ampla, fases estacionárias não específicas (fase reversa, fase normal, troca iónica, carbono activado, etc.), mas recentemente tem havido maior tendência para a utilização de outros materiais que permitem efectuar uma ligação muito selectiva de moléculas alvo e que permitam altas taxas de recuperação, sendo os mais populares, os materiais de imunoafinidade (IA).

A SPE em materiais não específicos é ainda empregada em análise de micotoxinas. Este tipo de extracção é usualmente utilizado para determinação multi-residual de micotoxinas seguida de LC-MS/MS, ou seja cromatografia líquida associada a espectrometria de massa, onde a grande selectividade do material SPE iria constituir um elemento limitante.

Os materiais de imunoafinidade são preparados através de anticorpos ligantes para uma dada micotoxina para um suporte de fase sólida especificamente activado. A extracção por imunoafinidade (IAE) é utilizada para todas as micotoxinas em diferentes matrizes. Amostras mais complexas requerem uma combinação de diferentes procedimentos de purificação (ex: LLE, SPE, precipitação de substâncias da matriz) com colunas de imunoafinidade. Existem colunas de imunoafinidade (IAC) disponíveis no mercado para diferentes grupos de micotoxinas (Garcia-Villanova *et al.*, 2004; Chan *et al.*, 2004).

A principal desvantagem da purificação relacionada com as IAC é a desnaturação dos anticorpos, mesmo na presença de baixas concentrações de solventes orgânicos (Trebstein *et al.*, 2008). Geralmente os anticorpos para os materiais de imunoafinidade são preparados *in vivo*, mas ultimamente têm sido efectuadas extracções com colunas de imunoafinidade com anticorpos gerados sinteticamente e que apresentam afinidade específica para micotoxinas (Lauer *et al.*, 2005; Giraudi *et al.*, 2007), como por exemplo as colunas MycoSep™. Estas são feitas a partir de vários absorventes especificamente seleccionados para recuperar micotoxinas individualmente, removendo a totalidade da matriz, deixando o composto em solução no topo da coluna (Schnerr *et al.*, 2002; Engler *et al.*, 1999). A figura 2.2 exemplifica o princípio de funcionamento das colunas MycoSep™. Este método é bastante rápido, prático e portátil, mas é específico para um dado tipo de micotoxinas, não sendo possível utilizá-lo para detecção múltipla da presença de micotoxinas numa dada matriz (Krska, R., 1998; Visconti & Pascale, 1998).



**Figura 3.2 – Princípio de funcionamento de um sistema MycoSep (TM)**  
– Fonte: (romerlabs, 2012).

A maior vantagem deste tipo de colunas é a menor necessidade de solvente e o facto de não requererem tanto tempo, uma vez que encurtam os passos que geralmente são utilizados numa fase SPE.

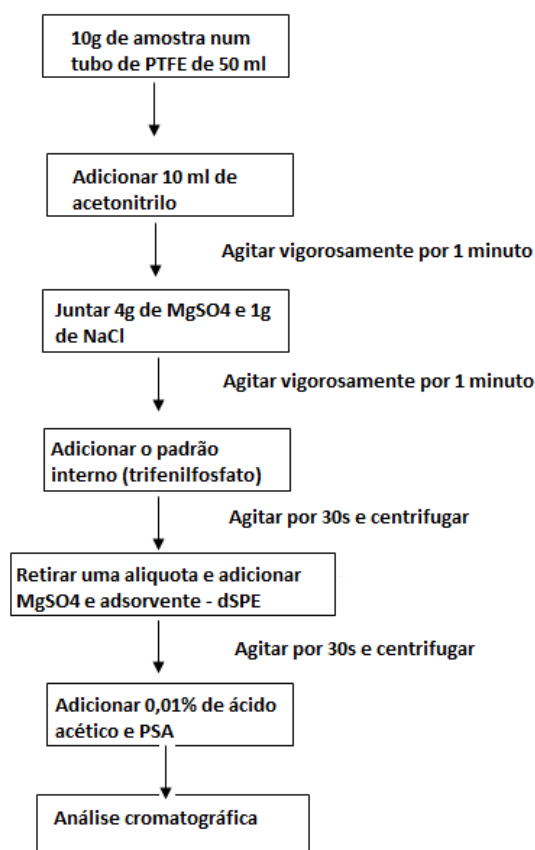
Outra forma de SPE para amostras sólidas é a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD), onde a amostra e o adsorvente (dispersante) são misturados homogeneamente. Esta técnica foi já utilizada para detecção de aflatoxinas em amendoins (Blesa *et al.*, 2003) e também tricotecenos em farinha de milho (Gentili *et al.*, 2007).

### Quechers

A técnica de Extração de QuEChERS foi desenvolvida por Anastassiades e os seus colaboradores em 2003, com o objectivo de conceber um método simplificado para efectuar preparações de amostras para detecção de multirresíduos de pesticidas em frutas e vegetais.

Hoje é uma técnica reconhecida pelos laboratórios do mundo inteiro e pelas entidades oficiais como a Association of Official Analytical Chemists(AOAC) International e o Comité Europeu de Normalização (CEN), sendo já possível adquirir kits para efectuar a técnica a laboratórios como a Sigma Aldrich ou outros.

A técnica recebe o nome de QuEChERS, pois foi desenvolvida com o objectivo de ser rápida (quick), fácil (easy), económica (cheap), eficiente (effective), robusta (rugged) e segura (safe) (Medina *et al.*, 2007; Lagana *et al.*, 2010, Prieto-Simón *et al.*, 2007). O objectivo era também, a possibilidade de ser aplicado em qualquer laboratório, devido à simplificação das etapas, como se pode ver na figura 3.3.



**Figura 3.3 – Fluxograma representativo do método QuEChERS original – Fonte: (Prestes *et al.*, 2009).**

A técnica QuEChERS é um método de preparação de amostras que implica a extracção com solvente de amostras com elevado teor de humidade, utilizando acetonitrilo, etil-acetato ou acetona e o particionamento com sulfato de magnésio que pode estar ou não combinado com outros sais. De seguida efectua-se a purificação utilizando (extracção em fase sólida dispersiva) d-SPE.

Basicamente, a amostra é inicialmente extraída com um solvente miscível em água, como por exemplo o acetonitrilo na presença de elevados teores de sais (ex: cloreto de sódio e sulfato de magnésio) e também de agentes tamponantes como o citrato. Deste modo pretende-se induzir a separação líquida e promover a estabilidade acídica e alcalina. Depois de agitar e centrifugar, retira-se uma alíquota da fase orgânica e procede-se à purificação, utilizando a técnica d-SPE (permite que a purificação e a redução de água residual sejam efectuados de uma forma rápida e simultânea. Esta etapa de remoção de água proporciona um extracto final de menor polaridade, facilitando a precipitação de co-extractivos polares). O adsorvente retém as interferências da matriz, sendo que depois da agitação manual e centrifugação, resulta um sobrenadante que pode ser analisado directamente ou pode ser sujeito a concentração para ser injectado no sistema cromatográfico. (Morgavi & Riley, 2007; Köller *et al.*, 2006; Papadopoulou-Bouraoui *et al.*, 2004).

Rubert *et al.*, utilizaram este método em 2012 e compararam-no com outros para detecção da presença de micotoxinas em cevada, tendo concluído que o método é mais eficaz e eficiente do que LLE, SPE ou MSPD, para além das vantagens já referidas de ser mais prático, mais rápido e económico.

Vários analistas têm utilizado esta técnica de preparação da amostra em análises de detecção ou quantificação de micotoxinas (Lacina *et al.*, 2012; Cunha & Fernandes, 2010; Paíga *et al.*, 2012; Sirhan *et al.*, 2011).

Esta técnica é muito flexível e desde que foi criada, têm surgido várias modificações, consoante o tipo de analito, o tipo de matriz, a instrumentação e as preferências dos analistas (Frenich *et al.*, 2011; Zachariasova *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2012).

## ii) Métodos Analíticos

Os métodos analíticos que são normalmente utilizados para determinação precisa de micotoxinas em amostras de alimentos são a cromatografia e a electroforese.

Destas, a mais frequentemente utilizada é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com diferentes detectores, sendo aplicada tanto como análise de rotina, como para método de confirmação para novas técnicas ou para métodos de *screening* (Shephard *et al.*, 2005, Urraca *et al.*, 2005, Ho & Durst, 2003, Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2007, Zougagh & Rios, 2008, Hernández-Hierro *et al.*, 2008).

Os métodos de *screening* são métodos que permitem detectar a presença qualitativa de um determinado composto, neste caso, micotoxinas. São métodos que fornecem uma resposta rápida, são fáceis de utilizar e são sensíveis, porém podem apresentar alguma reactividade cruzada para estruturas análogas à molécula alvo, pelo que devem ser sempre confirmados por outro método analítico (normalmente um método de separação cromatográfica). Os métodos de *screening* podem ser directos ou indirectos. Enquanto os métodos directos se baseiam quase sempre em imunoafinidade e na reacção entre o composto alvo e anticorpos e antigénios, os métodos indirectos baseiam-se na medição e interpretação de parâmetros ou compostos em amostras que se alteram em função da concentração da micotoxina. Nalguns tipos de toxinas, como os tricotecnos, a cromatografia gasosa (GC) é o método mais utilizado (Kos *et al.*, 2002).

Nos últimos anos tem havido muita investigação científica, no que toca ao desenvolvimento dos processos analíticos para detecção de micotoxinas, como se pode verificar pela comparação de alguns estudos anteriores (Shephard & Leggott, 2000, Lin *et al.*, 1998, Langseth & Rundberget, 1998; Valenta, 1998; Wilkes, & Sutherland, 1998; Shephard, 1998; Krska & Josephs, 2001) e outros mais actuais (Berthiller *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2006; Krska *et al.*, 2007; Sforza *et al.*, 2006; Zöllner & Mayer-Helm, 2006; Songsermsakul & Razzazi-Fazeli, 2008; Krska & Molinelli, 2007; Krska *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012; Soleimany *et al.*, 2011).

A grande diferença destes trabalhos não está relacionada com a sensibilidade ou com o limite de detecção, uma vez que tanto uns, como outros, estes se encontram muito abaixo do limite máximo admissível de resíduo presente nas amostras (Krska *et al.*, 2007; Langseth & Rundberget, 1998; Shephard, 1998; Zöllner & Mayer-Helm, 2006). A maior necessidade está em desenvolver métodos que sejam mais rápidos e fáceis de utilizar e que apresentem maior rendimento.

### Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção fluorimétrica (HPLC-FL)

O método HPLC é um método de detecção precisa que relativamente à Cromatografia líquida clássica (LC) apresenta maior sensibilidade e maior selectividade.

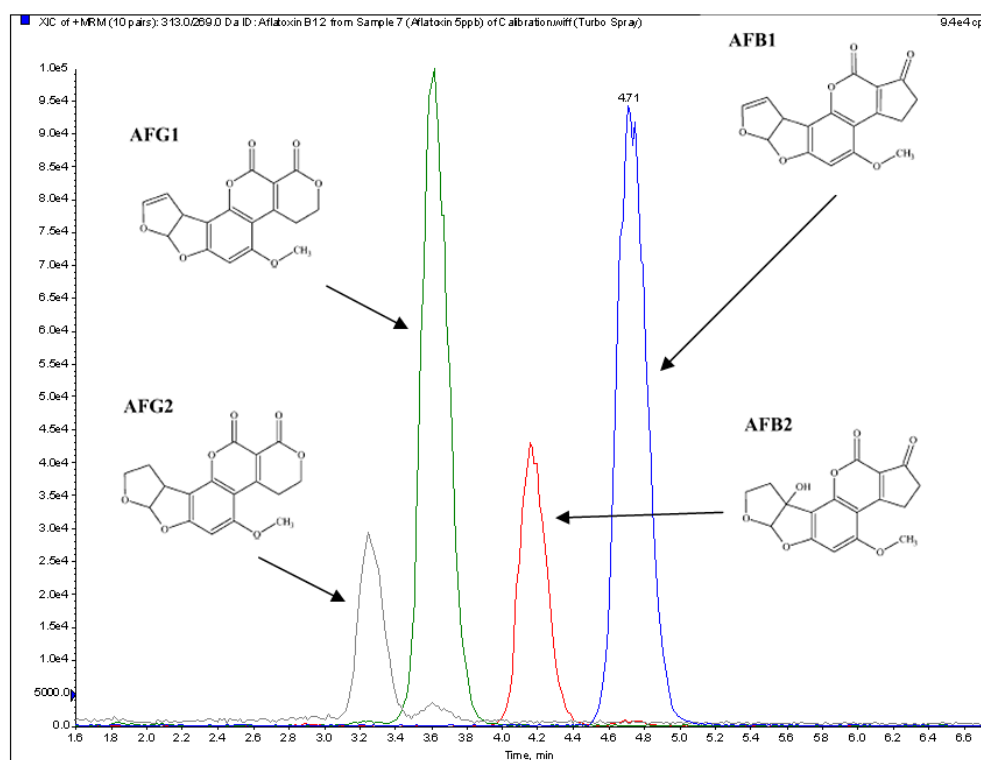
A detecção por fluorescência é altamente específica e sensível, existindo mesmo métodos para detecção de micotoxinas com fluorescência natural, como por exemplo as aflatoxinas, que estão bem estabelecidos, sendo bastante sensíveis e fidedignos e que são considerados métodos oficiais pela (AOAC).

Apesar da sua especificidade para compostos fluorescentes, estes devem ficar bem separados na coluna cromatográfica, de maneira que a sua quantificação seja fiável. Geralmente utiliza-se uma fase estacionária reversa, como por exemplo  $C_{18}$ . Relativamente à fase móvel, esta deve ser constituída por uma fase aquosa acídica, como por exemplo: ácido acético ou ácido trifluoroacético e também um gradiente com metanol ou acetonitrilo (Wilkes & Sutherland, 1998).

As aflatoxinas AFB2 e AFG2 apresentam fluorescência natural, enquanto AFB1 e AFG1 têm de ser derivatizadas para produzirem a sua fluorescência (Tarín *et al.*, 2004; Garcia-Villanova *et al.*, 2004; Sharma & Márquez, 2001; Chan *et al.*, 2004; Blesa *et al.*, 2003; Hierro *et al.*, 2008; D'Ovidio *et al.*, 2006).

Na maioria das vezes, utiliza-se uma coluna fase reversa  $C_{18}$ , uma fase móvel isocrática que consiste em 20 a 50% de solvente orgânico, e geralmente uma mistura de metanol, acetonitrilo e água (Tarin *et al.*, 2004; Garcia-Villanova *et al.*, 2004; Sharma & Márquez, 2001; Blesa *et al.*, 2003; Hierro *et al.*, 2008; Muscarella *et al.*, 2007).

Na figura 3.4. apresenta-se o cromatograma obtido de um sistema HPLC, resultante da separação cromatográfica das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2.



**Figura 3.4 - Separação cromatográfica de aflatoxinas por HPLC aos 5, 1.5, 5 e 1.5 ng/ ml de concentração de solução, respectivamente – Fonte: (caslab, 2012).**

### Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com outros tipos de detectores

Existem outros tipos de detector disponíveis para HPLC que podem ser utilizados para detecção de aflatoxinas, contudo os métodos de fluorescência e o de espectrometria de massa, são os métodos de eleição mais frequentemente utilizados para este tipo de compostos. Segundo Cigié & Prosen (2009), a razão prende-se, não só com o facto de existirem limites de detecção que não se enquadram no rastreamento de certas substâncias, mas também com a falta de especificidade de

alguns detectores, muito embora haja trabalhos desenvolvidos com outros tipos de detectores que demonstraram excelentes resultados, como o caso do detector de diodos no ensaio de Es'haghi *et al.*, (2011).

### **Cromatografia gasosa**

A Cromatografia gasosa moderna combina a separação nas colunas capilares com uma variedade de detectores específicos. A principal desvantagem desta, quando comparada com LC é o facto de apenas os compostos termicamente estáveis e os analitos voláteis poderem ser analisados, mas este problema pode ser resolvido parcialmente por derivatização. Não obstante, a detecção de micotoxinas é muito mais frequente em LC do que em GC, contribuindo em grande parte para isso, a dimensão e a polaridade das moléculas em questão.

As aflatoxinas são compostos termicamente estáveis (Opas, 1983), como já foi referido no capítulo 3.2, no entanto não são voláteis, pelo que a GC não é frequentemente utilizada na sua determinação.

### **Cromatografia em camada fina (TLC) e outros métodos cromatográficos**

A TLC é uma técnica rápida e de baixo custo e que permite obter resultados qualitativos e semi-quantitativos por inspecção visual ou resultados quantitativos fiáveis, quando se efectuam medições densitométricas (Krska *et al.*, 2007; Krska *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 1998).

Estes métodos foram desenvolvidos antes do desenvolvimento e acessibilidade a métodos como o HPLC e o LC-MS e alguns deles estavam estabelecidos como métodos oficiais AOAC. Os métodos TLC são raramente utilizados hoje em dia, a não ser para fins de *screening*.

### **Electroforese Capilar (CE)**

Apesar do elevado poder e versatilidade dos métodos de electroforese capilar (CE), a técnica de HPLC ganhou muito mais popularidade na detecção de aflatoxinas.

O acesso a limites de detecção suficientemente baixos pode apresentar um problema em electroforese capilar, portanto as micotoxinas para as quais os métodos de CE foram desenvolvidos são quase sempre aquelas que também podem ser detectadas por fluorescência (FL). (Peña *et al.*, 2002) determinou aflatoxinas em alimentos para animais através de cromatografia electrocinética capilar micelar combinada com detecção por fluorescência.

### **Outros métodos de separação**

Para além dos métodos cromatográficos, existem outros métodos de separação de micotoxinas, como por exemplo o ELISA. O método enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tornou-se muito popular nos últimos tempos, por ser mais fácil de utilizar e por apresentar mais baixo custo (Jestoi *et al.*, 2005, Sewram *et al.*, 1999; Turner *et al.*, 2009).

O método ELISA consiste num teste imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos, baseando-se na interacção anticorpo-antigene.

Existem kits ELISA disponíveis no mercado para detecção de micotoxinas. Estes kits normalmente apresentam-se num formato que utiliza um anticorpo específico primário para a molécula alvo ou um conjugado de uma enzima e o alvo requerido (Jestoi *et al.*, 2005 Cavaliere *et al.*, 2005; Cavaliere *et al.*, 2007). O complexo formado irá então interagir com o substracto cromogénico para dar um resultado mensurável. Esses kits podem ser portáteis, são rápidos e apresentam uma especificidade

elevada. A principal desvantagem destes kits é o facto de serem de uma única utilização, o que pode fazer aumentar os custos, caso se pretenda fazer uma triagem em massa.

Este método apresenta ainda, a desvantagem de ter uma gama de detecção limitada devido à sensibilidade limitada dos anticorpos, sejam eles monoclonais ou policlonais.

O desenvolvimento de anticorpos para a maioria das micotoxinas requer o desenvolvimento de uma molécula transportadora (geralmente uma proteína, ex: albumina de soro bovino) para alcançar a imunogenicidade. Isto deve-se à pequena dimensão molecular das micotoxinas. O processo de conjugação pode ser responsável pela diminuição da selectividade do ensaio.

Engelhart e os seus colaboradores (2002) produziram e caracterizaram soro de aflatoxina B2 (AFT B2) e utilizaram-no com o método ELISA para quantificar aflatoxina B1 (FT B1). O método ELISA apresenta mais vantagens no caso das micotoxinas, como método de *screening*, ou seja para verificar a presença qualitativa e não quantitativa de determinada substância.

Os kits ELISA foram desenvolvidos em vários formatos, tais com placas de microtitulação, ou membranas e podem ainda estar acoplados a outras técnicas, por exemplo sensores electroquímicos e ressonância de plasma de superfície (SPR) (Rychlik & Asam, 2008; Stokvis *et al.*, 2005).

Na tabela 2.3 apresentam-se alguns exemplos de estudos recentes para detecção de aflatoxinas, utilizando diferentes metodologias para determinação de aflatoxinas B1, B2, G1 e G2. Os aspectos mais importantes a destacar são:

- o solvente de eleição utilizado é o metanol;
- a técnica de separação HPLC-FLD é a mais utilizada e também a que apresenta melhores taxas de recuperação, no entanto ELISA também mostrou bons resultados;
- os limites de detecção (LOD) encontram-se bastante abaixo dos limites de quantificação (LOQ) em todos os ensaios efectuados;
- nos casos em que foi utilizado HPLC como método de separação verifica-se que o método apresenta muita sensibilidade, uma vez que o LOD é muito baixo.



**Tabela 3.3** – Alguns exemplos de estudos recentes para determinação de aflatoxinas B1, B2, G1 e G

AFLATOXINA	Método analítico	Solvente	Recuperação (%)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Referências Bibliográficas
<b>B1</b>	HPLC-MS	metanol	81% ± 5%	0.002	0,05	Bansal, 2011
	HPLC-MS/MS	metanol e ciclohexano	90.7 ± 2,6%	0,5	s/d	Lutfullah, 2011
	ELISA	metanol	95,2 ± 2,3%	0,2 a 0,5	0,35 a 0,75	Reddy, 2011
	HPLC-IAC's	metanol	70 a 110%	0,1	s/d	Mazaheri, 2009
	HPLC-FLD	metanol	90,1% ± 6%	0,07	s/d	Nguyen, 2007
	ELISA	metanol	92,5% ± 2,6%	0,02	4,0	Reddy, 2010
	HPLC-FLD	metanol	99% ± 3%	0,1	0,44	Reiter, 2010
	UPLC-MS/MS	metanol	107,3% ± 6,8%	0,25	0,5	Soleimany, 2011
	HPLC-DAD	metanol	47,43% a 106,83%	0,074	0,1	Zarrin, 2011 *
<b>B2</b>	HPLC-MS	metanol	83% ± 4%	0.002	0,05	Bansal, 2011
	HPLC-MS/MS	metanol e ciclohexano	83,7% ± 2,0%	1,0	s/d	Lutfullah, 2011
	HPLC-FLD	metanol	98% ± 6%	0,1	0,5	Reiter, 2010
	UPLC-MS/MS	metanol	90,5% ± 9,1%	0,45	0,8	Soleimany, 2011
	HPLC-DAD	metanol	47,43% a 106,83%	0,061	0,1	Zarrin, 2011 *
<b>G1</b>	HPLC-MS/MS	metanol e ciclohexano	85,5% ± 3,1%	0,5	s/d	Lutfullah, 2011
	HPLC-FLD	metanol	98% ± 4%	0,15	0,52	Reiter, 2010
	UPLC-MS/MS	metanol	85,6% ± 9,0%	0,06	0,1	Soleimany, 2011
<b>G2</b>	HPLC-MS/MS	metanol e ciclohexano	87,4% ± 3,1%	1,0	s/d	Lutfullah, 2011
	HPLC-FLD	metanol	91 ± 9%	0,16	0,6	Reiter, 2010
	UPLC-MS/MS	metanol	84,9% ± 6,9%	0,6	1,0	Soleimany, 2011

\* - Fabrico de um nanocompósito baseado num processo gel-sólido para microextração em fase de fibra oca-sólida; **s/d** – sem dados para este parâmetro; **LOD** – Limite de detecção; **LOQ** – Limite de quantificação.

## Referências Bibliográficas:

- Alcaide-Molina, M., Ruiz-Jiménez, J., Mata-Granados, J., and Luque de Castro, M. (2009) High through-put aflatoxin determination in plant material by automated solidphase extraction on-line coupled to laser-induced fluorescence screening and determination by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216 (7):1115–1125.
- Bansal, J., Pantazopoulos, P., Tam, J., Cavlovic, P., Kwong, K., Turcotte, A., Lau Jemmali, M. (1989) Safety evaluation of mycotoxin-decontaminated feedstuffs. In *Mycotoxins and Phycotoxins*, eds. S. Natori, Hashimoto & Y. Ueno. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 233-241.
- Bansal, J., Pantazopoulos, P., Tam, J., Cavlovic, P., Kwong, K., Turcotte, A., Lau, B.P., Scott, P.M. (2011) Surveys of rice sold in Canada for aflatoxins, ochratoxin A and fumonisins. *Food Additives and Contaminants*. 28 (6): 767–774.
- Bauer, J; Gareis, M. (1987) Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette. *J. Vet.Med. (B)* 34: 613-627.
- Blesa, J.; Soriano, J.M.; Moltó, J.C.; Marín, R.; Mañes, J. (2003) Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1011: 49–54.
- Cavaliere, C.; Foglia, P.; Pastorini, E.; Samperi, R.; Laganà, A. (2005) Development of a multiresidue method for analysis of major *Fusarium* mycotoxins in corn meal using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 19: 2085–2093.
- Cavaliere, C.; Foglia, P.; Guarino, C.; Motto, M.; Nazzari, M.; Samperi, R.; Laganà, A.; Berardo, N. (2007) Mycotoxins produced by *Fusarium* genus in maize: Determination by screening and confirmatory methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 105: 700–710.
- Chan, D.; MacDonald, S.J.; Boughtflower, V.; Brereton, P. (2004) Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 1059: 13–16.
- Chu, F.S. (1991) Micotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. *Mutation Research.* 259 (3-4): 291-306.
- Cigié, I. K.; & Prosen, H. (2009) An overview of conventional and emerging analytical methods for the determination of mycotoxins. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 62-115.
- Coulombe, R. A. (1991) Aflatoxins. In: Sharma, R. P.; Salunkhe, D. K. *Mycotoxins and phytoalexins*. Boca Raton: CRC Press. 103-143. 775 p.
- Cunha, S., Fernandes, J. O. (2010) Development and validation of a method based on a QuEChERS procedure and heartcutting GC-MS for determination of five mycotoxins in cereal products. *J. Sep. Sci.* 33: 600–609.
- Dichter, C.R. (1984) Risk estimates of liver cancer due to aflatoxin exposure from peanuts and peanut products. *Food Chem. Toxicol.* 22: 431-437.
- D'Ovidio, K.; Trucksess, M.; Weaver, C.; Horn, E.; McIntosh, M.; Bean, G. (2006) Aflatoxins in ginseng roots. *Food Addit. Contam.*, 23: 174–180.
- Ellis, W.O., Smith, J.P., Simpson, B.K. & Oldham, J.H. (1991) Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 30: 403-439;
- Engelhart, S.; Looock, A.; Skutlarek, D.; Sagunski, H.; Lommel, A.; Farber, H.; Exner, M. (2002) Occurrence of toxigenic *Aspergillus versicolor* isolates and sterigmatocystin in carpet dust from damp indoor environments. *Appl. Environ. Microb.* 68: 3886–3890.

- Engler, K.H.; Coker, R.; Evans, I.H. (1999) A novel colorimetric yeast bioassay for detecting trichothecene mycotoxins. *J. Microbiol. Meth.* 35: 207–218.
- Es'haghia, Z.; Sorayaeib, H.; Samadib, F.; Masrouniab, M.; Bakheradc, Z. (2011) Fabrication of a novel nanocomposite based on sol–gel process for hollow fiber-solid phase microextraction of aflatoxins: B1 and B2, in cereals combined with high performane liquid chromatography–diode array detection. *Journal of Chromatography B*, 879: 3034– 3040.
- F. Soleimany, S. Jinap, A. Rahmani and A. Khatib. (2011) Simultaneous detection of 12 mycotoxins in cereals using RP-HPLC-PDA-FLD with PHRED and a post-column derivatization system. *Food Additives and Contaminants*. 28 (4): 494–501.
- Ferreira, I; Fernandes, J.O; Cunha, S. C. (2012) Optimization and validation of a method based in a QuEChERS procedure and gas chromatographyemass spectrometry for the determination of multi-mycotoxins in popcorn. *Food Control* 27: 188-193.
- Frenich, A.G; Romero-González, R; Gómez-Pérez, M.L; Vidal, J. L. M. (2011) Multi-mycotoxin analysis in eggs using a QuEChERS-based extraction procedure and ultra-high-pressure liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218: 4349– 4356.
- Garcia-Villanova, R.; Cordon, C.; González; Paramás, A.M.; Aparicio, P.; Rosales, M.E. (2004) Simultaneous immunoaffinity column cleanup and HPLC analysis of aflatoxins and ochratoxin A in Spanish bee pollen. *J. Agric. Food Chem.* 52: 7235–7239.
- Gentili, A.; Caretti, F.; D'Ascenzo, G.; Rocca L.M.; Marchese S.; Materazzi S.; Perret D. (2007) Simultaneous determination of trichothecenes A, B, and D in maize food products by LC-MSMS. *Chromatographia* 66: 669–676.
- Giraudi, G.; Anfossi, L.; Baggiani, C.; Giovannoli, C.; Tozzi, C. (2007) Solid-phase extraction of ochratoxin A from wine based on a binding hexapeptide prepared by combinatorial synthesis. *J. Chromatogr. A*. 1175: 174–180.
- Groopman, J.D., Cain, L.G., Kensler, T.W. (1988) Aflatoxin exposure in human populations: measurements and relationship to cancer. *Crit. Rev. Toxicol.* 19: 113-146.
- Gummert M, Balingbing CB, Barry G, Estevez LA. (2009) Management options, technologies and strategies for minimised mycotoxin contamination of rice. *World Mycotox J.* 2: 151–159.
- Gunzler, H. & Williams, A. (2002) *Handbook of analytical techniques*, Volume 2. Wiley-VCH, The University of Michigan. 1182 p.
- Harris, C. C. (1991) Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Research*. 51: 5023-5044.
- Hernández-Hierro, J.M.; García-Villanova, R.J.; González-Martín, I. (2008) Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market. *Anal. Chim. Acta* 622: 189–194.
- Ho, J.A.; Durst, R.A. Detection of fumonisin B1: (2003) Comparison of flow-injection liposome immunoanalysis with high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 6: 7–13.
- Hsieh, D. P. H.; Atkinson, D. N. (1991) Bifuranoid mycotoxins: their genotoxicity and carcinogenicity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 283: 525-532.
- Hussein, H. S.; Brasel, J. M. (2001) Review: toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167 (2): 101-134.

- International Agency for Research on Cancer. (1987) Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs volumes 1 to 2. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Supplement 7. Lyon, World Health Organization. 83-87;
- Jestoi, M.; Rokka, M.; Rizzo, A.; Peltonen, K.; Aurasaari, S. (2005) Determination of Fusariummycotoxins beauvericin and enniatins with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J. Liq. Chrom. Rel. Techn.* 28: 369–381.
- Köller, G.; Wichmann, G.; Rolle-Kampczyk, U.; Popp, P.; Herbarth, O. (2006) Comparison of ELISA and capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection in the analysis of Ochratoxin A in low volumes of human blood serum. *J. Chromatogr. B* 840: 94–98.
- Kos, G.; Lohninger, H.; Krska, R. (2002) Fourier transform mid-infrared spectroscopy with attenuated total reflection (FT-IR/ATR) as a tool for the detection of Fusarium fungi on maize. *Vibr.Spectrosc.* 29: 115–119.
- Krska, R. (1998) Performance of modern sample preparation techniques in the analysis of Fusarium mycotoxins in cereals. *J. Chromatogr. A* 815: 49–57.
- Krska, R.; Josephs, R. (2001) The state-of-the-art in the analysis of estrogenic mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Anal. Chem.* 369: 469–476.
- Krska, R.; Molinelli, A. (2007) Mycotoxin analysis: State-of-the-art and future trends. *Anal. Bioanal.Chem.* 387: 145–148.
- Krska, R.; Welzig, E.; Boudra, H. (2007) Analysis of Fusarium toxins in feed. *Animal Feed Sci. Technol.* 137: 241–264.
- Krska, R.; Schubert-Ullrich, P.; Molinelli, A.; Sulyok, M.; Macdonald, S.; Crews, C. (2008) Mycotoxin analysis: An update. *Food Addit. Contam.* 25: 152–163.
- Lacina, O.; Zachariasova, M.; Urbanova, J.; Vaclavikova, M.; Cajka, T.; Hajslova, J. (2012) Critical assessment of extraction methods for the simultaneous determination of pesticide residues and mycotoxins in fruits, cereals, spices and oil seeds employing ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1262: 8-18.
- Lagana, A.; Fago, G.; Marino, A.; Santarelli, D. (2010) Development of an analytical system for the simultaneous determination of anabolic macrocyclic lactones in aquatic environmental samples. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 15: 304–310.
- Langseth, W.; Rundberget, T. (1998) Instrumental methods for determination of nonmacrocytic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. *J. Chromatogr. A* 815: 103–121.
- Lauer, B.; Otteleben, I.; Jacobsen, H.-J.; Reinard, T. (2005) Production of a single-chain variable fragment antibody against fumonisin B1. *J. Agric. Food Chem.* 53: 899–904.
- Leeson, S.; Diaz, G. J.; Summers, J. D. (1995) Poultry metabolic disorders and mycotoxins. Guelph: University Books, 352 p.
- Li, Y; Liu, X; Lin, Z. Recent developments and applications of surface plasmon resonance biosensors for the detection of mycotoxins in foodstuffs. *Food Chemistry* 132 (2012) 1549–1554.
- Linsell, C. A.; Peers, F. G. (1977) Aflatoxin and liver cell cancer. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 471- 473.
- Massey, T. E., Stewart, R.K., Daniels, J.M. & Ling, L. (1995) Biochemical and molecular aspects of mammalian susceptibility to aflatoxin B1 carcinogenicity. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.* 208: 213-227.

- Medina, Á.; Mateo, R.; Valle-Algarra, F.M.; Mateo, E.M.; Jiménez, M. (2007) Effect of carbendazim and physicochemical factors on the growth and ochratoxin A production of *Aspergillus carbonarius* isolated from grapes. *Intern. J. Food Microbiol.* 119: 230–235.
- Morgavi, D.P.; Riley, R.T. (2007) An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. *Animal Feed Sci. Technol.* 137: 201–212.
- Moss, M.O. (1998) Recent studies of mycotoxins. *Journal of applied Microbiology Symposium.* 84 (1): 62-76.
- Nguyen MT, Tozlovanu M, Tran TL, Pfohl-Leszkowicz A. (2007). Occurrence of aflatoxin B<sub>1</sub>, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. *Food Chemistry* 105: 42–47.
- Oliveira, C. A. F; Germano, P. M. L. (1997) Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. *Revista de Saúde Pública, São Paulo.* 31 (4): 417-424.
- Osweiler, G. D. (1990) Mycotoxins and livestock: What role do fungal toxins play in illness and production losses? *Veterinary Medicine* 85 (1) 89-94.
- Paíga, P; Morais, S; Oliva-Teles; T; Correia, M; Delerue-Matos, C; Duarte, S. C; Pena, A; Lino, C. (2012) M. Extraction of ochratoxin A in bread samples by the QuEChERS methodology. *Food Chemistry* 135: 2522–2528.
- Papadopoulou-Bouraoui, A.; Vrabcheva, T.; Valzacchi, S.; Stroka, J.; Anklam, E. (2004) Screening survey of deoxynivalenol in beer from the European market by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Addit. Contam.* 21: 607–617.
- Park, D.L., Liang, B. (1993) Perspectives on aflatoxin control for human food and animal feed. *Trends Food Sci. Technol.* 4: 334-342.
- Peers, F. G.; Bosch, F. X.; Kaldor, J.; Linsell, A.; Pluijmen, M. (1987) Aflatoxin exposure, hepatitis B virus infection and liver cancer in Swaziland. *International Journal of Cancer* 39: 545-553.
- Peers, F.G. & Linsell, C.A. (1973) Dietary aflatoxins and liver cancer – a population based study in Kenya. *Br. J. Cancer.* 27: 473-484.
- Peña, R.; Alcaraz, M.C.; Arce, L.; Ríos, A.; Valcárcel, M. (2002) Screening of aflatoxins in feed samples using a flow system coupled to capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A.* 967: 303–314.
- Pereira, M. M. G.; Carvalho, E.P.; Prado, G.; Rosa, C.A.R.; Veloso, T.; Souza, L.A.F.; Ribeiro, J.M.M. (2005) Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil. *Ciência e Agrotecnologia.* 29 (1): 106-112.
- Pittet, A. (1998) Natural occurrence of mycotoxins en foods and feeds - an updated review. *Revue de Medecine Veterinaire.* 149 (6) 479-492.
- Prestes, O. D; Friggi, C. A; Adaime, M. B; Zanella, R. (2009) QuEChERS – Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. *Quim. Nova.* 32 (6): 1620-1634.
- Prieto-Simón, B.; Noguer, T.; Campàs, M. (2007) Emerging biotools for assessment of mycotoxins in the past decade. *TrAC* 26: 689–702.
- Reddy, KRN, Reddy, CS, Muralidharan, K. (2009) Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B<sub>1</sub> in rice in India. *Food Microbiology* 26 (1): 27–31.

- Reiter, E.V., Vouk, F., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E. (2010) Aflatoxins in rice – A limited survey of products marketed in Austria. *Food Control*. 21: 988–991.
- Rosário, A. C; Serôdio, P; Nogueira, P. (2004) Novas perspectivas na preparação de amostras para análise cromatográfica. *Química*, 95: 69-77.
- Rustom, I., (1997) Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*. 5: 57-67.
- Rychlik, M.; Asam, S. (2008) Stable isotope dilution assays in mycotoxin analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 390: 617–628.
- Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J., Carnaghan, R.B.A. (1961) Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature*. 192: 1095-1097.
- Schnerr, H.; Vogel, R.F.; Niessen, L. (2002) A biosensor-based immunoassay for rapid screening of deoxynivalenol contamination in wheat. *Food Agric. Immunol.* 14: 313–321.
- Scott, P. M. (1995) Mycotoxin methodology. *Food Addit Contam.* 12 (3): 395-403.
- Sewram, V.; Nieuwoudt, T.W.; Marasas, W.F.O.; Shephard, G.S.; Ritieni, A. (1999) Determination of the mycotoxin moniliformin in cultures of *Fusarium subglutinans* and in naturally contaminated maize by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 848: 185–191.
- Shank, R.C., Wogan, G.N., Gibson, J.B. & Nondasuta, A. (1972) Dietary aflatoxins and human liver cancer II. Aflatoxins in market foods and foodstuffs of Thailand and Hong Kong. *Food Cosmet. Toxicol.* 10: 61-69.
- Sharma, M.; Márquez, C. (2001) Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. *Anim. Feed Sci. Technol.* 93: 109–114.
- Shephard, G.S. (1998) Chromatographic determination of the fumonisin mycotoxins. *J. Chromatogr. A*. 815: 31–39.
- Shephard, G.S.; Leggott, N.L. (2000) Chromatographic determination of the mycotoxin patulin in fruit and fruit juices. *J. Chromatogr. A*. 882: 17–22.
- Shephard, G.S.; van der Westhuizen, L.; Gatyeni, P.M.; Katerere, D.R.; Marasas, W.F.O. (2005) Do fumonisin mycotoxins occur in wheat? *J. Agric. Food Chem.* 53: 9293–9296.
- Sirhan, A, Y; Tan, G.H.; Wong, R.C.S. (2011) Method validation in the determination of aflatoxins in noodle samples using the QuEChERS method (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) and high performance liquid chromatography coupled to a fluorescence detector (HPLCeFLD). *Food Control*. 22: 1807-1813.
- Stokvis, E.; Rosing, H.; Beijnen, J.H. (2005) Stable isotopically labeled internal standards in quantitative bioanalysis using liquid chromatography/mass spectrometry: necessity or not? *Rapid. Commun. Mass. Sp.* 19: 401–407.
- Storage Training Notes. (1982) Fungal damage in durable foodstuffs with special reference to storage in the tropics. Tropical Products Institute, London, 5 p.
- Stroka, J.; van Otterdijk, R.; Anklam, E. (2000) Immunoaffinity column clean-up prior to thin-layer chromatography for the determination of aflatoxins in various food matrices. *J. Chromatogr. A*. 904: 251–256.
- Tarín, A.; Rosell, M.G.; Guardino, X. (2004) Use of high-performance liquid chromatography to assess airborne mycotoxins – Aflatoxins and ochratoxin A. *J. Chromatogr. A*. 1047: 235–240.

- Trebstein, A.; Seefelder, W.; Lauber, U.; Humpf, H.-U. (2008) Determination of T-2 and HT-2 toxins in cereals including oats after immunoaffinity cleanup by liquid chromatography and fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* 56: 4968–4975.
- Turner, N. W.; Subrahmanyam, S.; Piletsky, S. A. (2009) Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta* 632: 168-180.
- Urraca, J.L.; Benito-Peña, E.; Pérez-Conde, C.; Moreno-Bondi, M.C.; Pestka, J.J. (2005) Analysis of zearalenone in cereal and swine feed samples using an automated flow-through immunosensor. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3338–3344.
- Urraca, J.L.; Marazuela, M.D.; Moreno-Bondi, M.C. (2004) Analysis for zearalenone and alpha-zearalenol in cereals and swine feed using accelerated solvent extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta.* 524: 175–183.
- Valenta, H. (1998) Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. *J. Chromatogr. A* 815: 75–92.
- Van Rensburg, S. J.; Cook-Mozaffari, P.; Van Schalkwik, D. J.; Van der Watt, J.; Vincent, T. J.; Purchase, I. F. (1985) Hepatocellular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and Transkei. *British Journal of Cancer.* 51: 713-726.
- Van Rensburg, S. J.; Van Schalkwik, G. C.; Van Schalkwik, D. J. (1990) Primary liver cancer and aflatoxin intake in Transkei. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology.* 10: 11-16.
- Viquez, O.M.; Peres, M.E.C.; Shelby, R.A.; Brown, G. (1994) Aflatoxin contamination in corn samples due to environmental conditions, aflatoxin-producing strains, and nutrients in grain grown in Costa Rica. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 42 (11): 2551-2555.
- Visconti, A.; Pascale, M. (1998) Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 815: 133–140.
- Wang, Y.; Chai, T.; Lu, G.; Quan, C.; Duan, H.; Yao, M.; Zucker, B.-A.; Schlenker, G. (2008) Simultaneous detection of airborne Aflatoxin, Ochratoxin and Zearalenone in a poultry house by immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography. *Environ. Res.* 107: 139–144.
- Wang, Y; Liu, N; Ning, B; Liu, M; Lu, Z; Sun, Z; Peng, Y; Chen, C; n Li , J; Gao, Z. (2012) Simultaneous and rapid detection of six different mycotoxins using na immunochip. *Biosensors and Bioelectronics.* 34: 44– 50.
- Wilkes, J.G.; Sutherland, J.B. (1998) Sample preparation and high-resolution separation of mycotoxins possessing carboxyl groups. *J. Chromatogr. B* 717: 135–156.
- Wogan, G. N. (1992) Aflatoxin carcinogenesis: interspecies potency differences and relevance for human risk assessment. *Progress in Clinical and Biological Research.* 374: 123-137.
- Xu, B.-J.; Jia, X.-Q.; Gu, L.-J.; Sung, C.-K. (2006) Review on the qualitative and quantitative analysis of the mycotoxin citrinin. *Food Control.* 17: 271–285.
- Yeh, F. S.; Yu, M. C.; Mo, C. C.; Chi-Chun; Luo, S.; Tong, M. J.; Henderson, B. E. (1989) Hepatitis B virus, aflatoxins, and hepatocellular carcinoma in Southern Guangxi, China. *Cancer Research.* 49: 2506-2509.
- Young, J. C.; Games, D. E.; (1993) Supercritical Fluid Extraction and Supercritical Fluid Chromatography of the fungal metabolite ergosterol. *J. Agric. Food Chem.* 41: 577-581.
- Zachariasova, M; Lacina, O; Malachova, A; Kostelanska, M; Poustka, J; Godula, M; Hajslova, J. (2010) Novel approaches in analysis of Fusarium mycotoxins in cereals employing ultra performance

liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 662: 51–61.

- Zain, M. (2011) Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society* 15: 129–144.

- Zougagh, M., Rios, A. (2008) Supercritical fluid extraction of macrocyclic lactone mycotoxins in maize flour samples for rapid amperometric screening and alternative liquid chromatographic method for confirmation. *J. Chromatogr. A*. 1177: 50-57.

#### **Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:**

- Harmful substances and hazardous waste. (2010) Unep. United Nations Environment Program: <http://www.unep.org/pdf/brochures/HarmfulSubstances.pdf>

- MycoSep and MultiSep. (2012) Romer Labs. Making the World's food safer: - <http://www.romerlabs.com/en/products/mycotoxins/mycosep-multisep/>

- Aflatoxin Testing (2012) ALS Environmental: <http://www.caslab.com/Aflatoxin-Testing/>

- Fórmulas de algumas micotoxinas: <http://www.micotoxinas.com.br/formulas.htm>

- Sweets, L. (s/d) Stored Grain Fungi. Department of Plant Pathology: <http://agebb.missouri.edu/storage/disease/sgfungi.htm>





## CAPÍTULO IV

### 4. – Produção e consumo de arroz

#### 4.1 - A cultura do arroz – origem e importância

A planta do arroz, *Oryza sativa* L. pertence à família das gramíneas ou Poaceae, e é uma monocotiledónea (Caixinhas *et al.*, 1994).

É uma cultura que necessita de água em abundância e que se desenvolve mesmo em terrenos inclinados. Em Portugal cultiva-se em condições de inundação quase permanente, porém noutras regiões pode ser cultivado em condições de sequeiro ou submersão mais ou menos profunda.

Actualmente existem duas espécies cultivadas de arroz, *Oryza sativa* (de origem asiática) e *Oryza glaberrima* Steur (de origem africana). Existem diferentes tipos de arroz, estimando-se mesmo em alguns milhares, o número de variedades a nível mundial. As variedades mais produzidas são a *Oryza sativa* var. *Indica* (grão longo fino) do lado indiano e *Oryza sativa* var. *Japonica* do lado chinês (*Japonica* – grão médio ou redondo) (Vianna e Silva, 1983).

A origem do arroz é tema de controvérsia, no entanto pensa-se que seja originário da China, onde existem evidências arqueológicas com data de cerca de 8 mil anos. Hoje em dia, esta cultura produz-se em todos os continentes, à excepção da Antárctida, sendo presença constante na alimentação asiática (Maclean *et al.*, 2002).

Pensa-se que cultura tenha sido introduzida em Portugal no reinado de D. Dinis (séc. XIII), na zona do Baixo Mondego, na região de Montemor-o-Velho, a partir de sementes provenientes da região de Sevilha. Este cereal começou a ser documentado nos primeiros anos do século XVIII, havendo registos da sua presença nessa época, nas zonas limítrofes do estuário do Tejo. (Vianna e Silva, 1983). Nessa altura foram dados incentivos à produção de arroz, principalmente nas regiões dos estuários dos principais rios do país. Por volta do ano 1900, esta cultura estava limitada às zonas alagadiças dos vales dos principais rios de Portugal, desenvolvendo-se mais tarde para outras regiões do país (Vianna e Silva, 1983; (projovem, 2010).

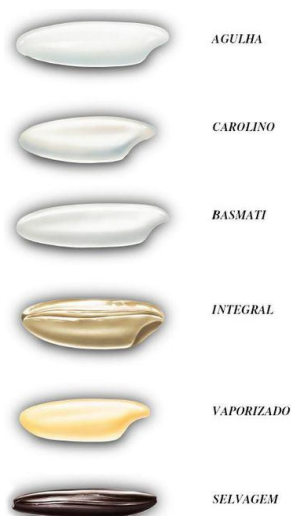
Actualmente, Portugal produz cerca de 150 milhões de kg por ano, provenientes das principais zonas: Vale do Tejo, Sado e Mondego. Cerca de 30 mil hectares encontram-se cultivados com arroz (Exame Expresso, 7/3/11), sendo maioritariamente arroz carolino (var. *Japonica*) (Brites *et al.*, 2006). Porém, no Sul verifica-se uma inversão desta tendência com o cultivo de uma elevada percentagem de variedades de tipo *Indica*, uma vez que estas apresentam maior produtividade e consequentemente maior rendimento para o produtor (projovem, 2010).

“A produção de arroz em Portugal tem vindo a aumentar, mas ainda pode crescer, embora seja muito difícil sermos auto suficientes. Produzimos 50 a 60% das nossas necessidades.” (António Serrano, ex-ministro da agricultura, in *Exame Expresso*, 07/03/11).

#### 4.2 - Tipos de arroz comercializados

Existem mais de 8.000 variedades diferentes de arroz. No entanto, de acordo com a legislação portuguesa distinguem-se três tipos comerciais, quanto ao aspeto e dimensão dos grãos:

- Grãos redondos – arroz cujos grãos tenham um comprimento inferior ou igual a 5,2 mm e cuja relação comprimento/ largura seja inferior a 2.
- Grãos médios – arroz cujos grãos tenham um comprimento superior a 5,2 mm e inferior ou igual a 6,0 mm e cuja relação comprimento/ largura seja inferior a 3;
- Grãos longos – arroz de grãos com um comprimento superior a 6,0 mm e cuja relação comprimento/ largura seja superior a 2 e inferior a 3, ou superior ou igual a 3 (Decreto-Lei n.º 62/2000 de 19 de abril).



**Figura 4.1 – Diferentes tipos de grãos de arroz. Fonte: (Mundiarroz, 2012)**

O mais comum em Portugal é o arroz Carolino (longo), tanto pelas suas características, como pelo nosso clima. Porém, nos últimos anos, graças à investigação e às novas tecnologias têm-se vindo a desenvolver com bastante êxito a produção de arroz Agulha (longo), um tipo de arroz muito apropriado para guarnições (Mundiarroz, 2012).

Dentro dos três principais grupos existem diferentes tipos de grãos com especificidades, tanto a nível de aspecto e sabor, como a nível de outras características alimentares (Figura 4.1 e 4.2).

O arroz Carolino pertence à variedade *Japonica* e apresenta um grão com um comprimento superior a 6,0 mm e uma relação comprimento/largura de aproximadamente 2,5. É o arroz mais consumido em Portugal, pelas suas características de confeção, apresentando excelentes resultados na preparação de pratos tipicamente portugueses.

O Arroz Agulha pertence à variedade *Indica*, apresenta um grão com um comprimento superior a 6,0 mm e uma relação comprimento/largura superior a 3. Este tipo de arroz tem vindo a ganhar quota de mercado, em detrimento do Carolino, por ser mais adequado para preparar guarnições, uma vez que é mais fácil de cozinhar, apresentando uma textura solta e paladar agradável.

O arroz Vaporizado ou Estufado é submetido a um processo de laboração industrial, de modo a que, ainda em película ou casca é imerso em água, sendo depois vaporizado e seco, ficando o amido

totalmente gelatinizado. Este tipo de arroz apresenta-se firme e de cor dourada, sendo muito rico em fibras e sais minerais.

O arroz Integral é um arroz descascado e limpo, mas que não sofre branqueamento. Tendo em conta que conserva grande parte do seu farelo, trata-se de um arroz mais rico em fibras, minerais e vitaminas. Apresenta um sabor característico.

O arroz Vermelho apresenta um bago vermelho longo e fino. É rico em monocolina, substância que pode ajudar na redução dos níveis de colesterol LDL no sangue. Este tipo de arroz tem também um teor de ferro três vezes superior ao arroz branco e duas vezes mais zinco.

O arroz Negro não é muito popular no ocidente, no entanto já é consumido na China há milhares de anos. Esta variedade apresenta uma cor acastanhada e contém cerca de mais 20% de proteínas que o arroz branco e cerca de mais 30% de fibras do que o arroz integral. Apresenta um elevado teor em compostos fenólicos e anti-oxidantes, um elevado teor de ferro e menos gordura e calorias que o arroz tradicional (Planeta Arroz, 2006).

As variedades de arroz Carnaroli, Arborio e Vialone Nano (risoto) pensa-se que sejam originárias de Itália. São tipos de arroz de bago médio e arredondado. Considera-se que o Carnaroli seja o melhor para preparar pratos de risotto, deixando uma goma muito acentuada aquando da sua confeção, devido aos teores elevados em amilopectina.

O arroz Selvagem pertence a uma espécie de gramínea diferente e tem um teor de amido menor. Tem um grão de cor escura e de comprimento cerca de três vezes maior que o arroz comum. O seu interior tem um aspeto claro e macio. Esta espécie cresce de forma selvagem e natural em pequenas produções nas margens de grandes lagos da América do Norte. É um arroz rico em nutrientes, pouco calórico e geralmente utilizado em saladas ou em mistura com o arroz branco, exalando um aroma característico a ervas.



**Figura 4.2 – Vários tipos de arroz: da esquerda para a direita: arroz vaporizado, arroz negro, arroz agulha, arroz vermelho. Fonte: (Mundiarroz, 2012).**

O arroz Basmati proveniente dos vales dos Himalaias é considerado como um dos mais selectos e agradáveis do mundo, pelo seu aroma intenso e devido ao seu grão longo e delicado. Apresenta uma cor branca extraordinária. O seu nome em Hindi traduz-se da seguinte forma “Bas” significa “aroma” e “Mati” significa “cheio”, traduzindo-se portanto como “cheio de aroma” (basmatiasociates, s/d).

O composto responsável pelo aroma desta variedade de arroz é o 2-acetil-1-pirrolina que se encontra presente numa proporção de 1 mg/kg de arroz, ou seja aproximadamente doze vezes mais concentrado que num arroz normal (FAO, 2012).

As características aromáticas e nutricionais do arroz Basmati dependem de reacções químicas e bioquímicas que se desenvolvem durante o processo de “envelhecimento”, sendo o arroz mais valorizado comercialmente, quanto mais tempo tiver ficado armazenado a desenvolver essas características (Bhattacharjee *et al.*, 2002).

O arroz Thai Jasmin ou Tailand's Jasmine, proveniente da Tailândia, como o próprio nome indica é conhecido como um dos mais agradáveis e aromáticos do mundo. Tem um sabor natural e é único.

As variedades de arroz aromático, tais como o arroz Basmati da Índia e Paquistão e o arroz Thai Jasmine têm tido uma exportação crescente para países da Europa e do Norte da América, onde a procura de novos aromas e novas tendências alimentares se tem feito sentir nos últimos anos (FAO, 2012).

#### **4.3 - Produção e consumo de arroz em Portugal, na União Europeia e no Mundo**

O arroz, rico em hidratos de carbono, alimenta cerca de 50% da população mundial, sendo a terceira maior cultura cerealífera em todo o mundo. Em muitos países da Ásia, África e América Latina, o arroz representa e representará durante os próximos anos, o principal cereal da sua dieta (Maclean *et al.*, 2002, Yoshida, 1981).

Actualmente, o arroz é produzido em todos os continentes, apesar de o principal produtor a nível mundial ser a China, abarcando cerca de 30% da produção total. Aproximadamente um bilião de lares na Ásia, África e América dependem do cultivo do arroz como principal fonte de rendimento (Maclean *et al.*, 2002).

Portugal produz cerca de 160.000 a 170.000 toneladas de arroz anualmente, essencialmente nas regiões do vale do Tejo e Sorraia, Mondego e Vale do Sado e representa o terceiro maior produtor de arroz a nível europeu.

No ano 2010, de acordo com dados da FAO (Food and Agriculture Organization) a cultura do arroz ocupou o 11º lugar em termos de quantidade, em Portugal, tendo-se produzido cerca de 170.000 toneladas só nesse ano, como se pode verificar na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1 – Ranking de produtos agrícolas produzidos em Portugal no ano 2010. Fonte: (FAOSTAT, 2012).**

Ranking	Género alimentício	Produção (\$1000)	Produção (MT)	Origem dos dados
1	Leite de vaca inteiro, fresco	610594	1956650	
2	Tomate	519644	1406100	
3	Uvas	540407	945400	
4	Legumes frescos	124936	663000	Im
5	Batatas	48778	384000	
6	Carne de porco	480412	312516	Fc
7	Carne de frango	435051	305426	Fc
8	Azeitonas	191848	239600	Im
9	Laranjas	37473	193900	
10	Pêras	72322	176900	
11	Arroz branqueado	46453	170200	
12	Couves	25469	170200	Im
13	Maçãs	69654	164700	
14	Cenouras e nabos	40643	162900	Im
15	Beterraba sacarina	5893	137000	F
16	Ovos de galinha c/ casca	108650	131000	
17	Cebolas	27073	128900	Im
18	Alface e chicória	49930	106800	Im
19	Carne de vaca	271818	100622	Fc
20	Leite de ovelha inteiro fresco	31554	81030	

**Legenda:** F – estimado pela FAO; Fc – dados calculados;  
Im – dados da FAO baseados em metodologia de imputação.

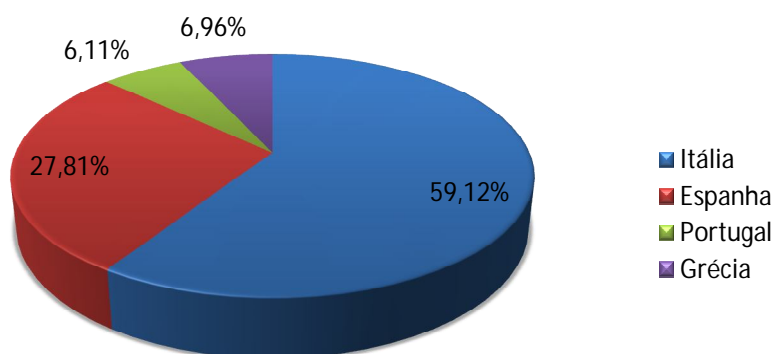
Na década de 2001 a 2010 cultivaram-se na Europa mais de 24.475.743 MT (Tonelada métrica que representa  $10^3$  kg) de arroz. A figura 3.3 ilustra as regiões da Europa onde existe maior produção de arroz.



**Figura 4.3 – Principais áreas de produção de arroz na Europa. Fonte: (Mac Lean *et al.*, 2002. )**

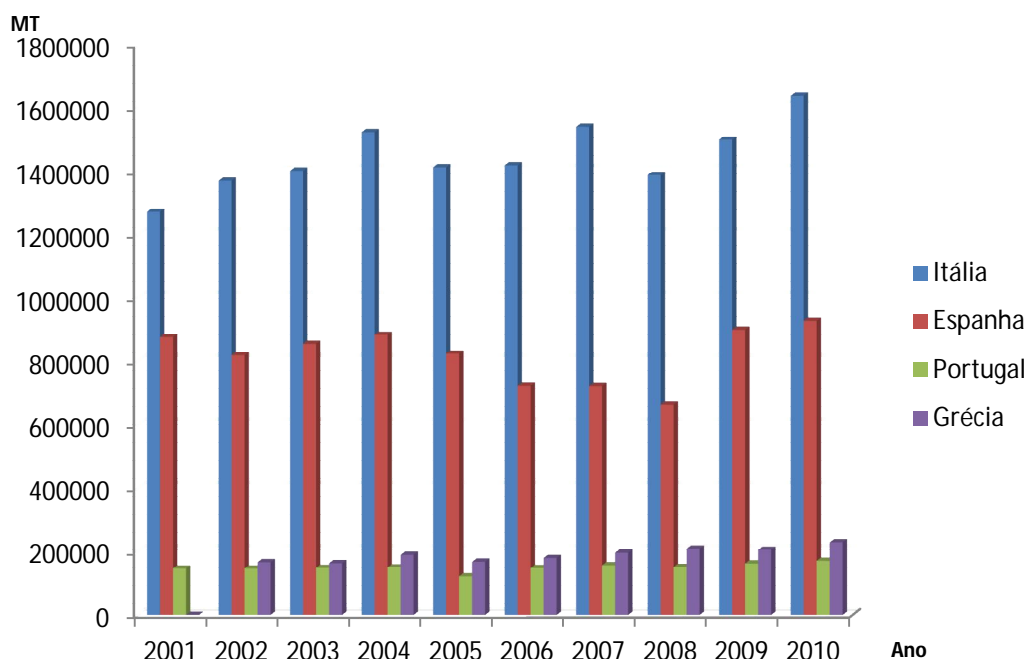
Os principais produtores de arroz na Europa são a Itália (221.000ha), Espanha (111.000ha), Portugal (31.000ha), a Grécia (27.000ha) e a França (19.000ha) (Maclean *et al*, 2002).

No gráfico 3.4 verifica-se que em termos de volume de produção destes países na década de 2001 a 2010, a Itália detém a maior parcela (59,12%) com cerca de 14.469.320 MT, seguida da Espanha (27,81%) aproximadamente 6.807.464 MT, depois a Grécia com MT (6,96%), 1.702.470 MT e por fim Portugal (6,11%) que representa 1.496.489 MT. O valor de produção da França não é representativo para esta ordem de grandeza (FAOSTAT, 2011).



**Figura 4.4 – Percentagem do volume de produção da cultura do arroz nos principais países europeus produtores na década de 2001 a 2010. Fonte: FAOSTAT.**

Quando ao crescimento da produção nestes países, esta tem vindo a subir de modo geral, como se pode constatar na figura 3.5, que apresenta ao longo da década de 2001 a 2010 os valores de produção em MT. Verifica-se que os valores vão aumentando ao longo dos anos para todos os países, à excepção de 2001, 2007 e 2008 (FAOSTAT, 2011).



**Figura 4.5 – Volume de produção de arroz em MT de 2001 a 2010 nos principais países produtores da Europa. Fonte: (FAOSTAT, 2012)**

Os principais produtores de arroz a nível mundial situam-se na Ásia e também no continente Americano, sendo a China o principal produtor, com um valor médio de produção de 184 milhões de MT na década de 2001 a 2010.

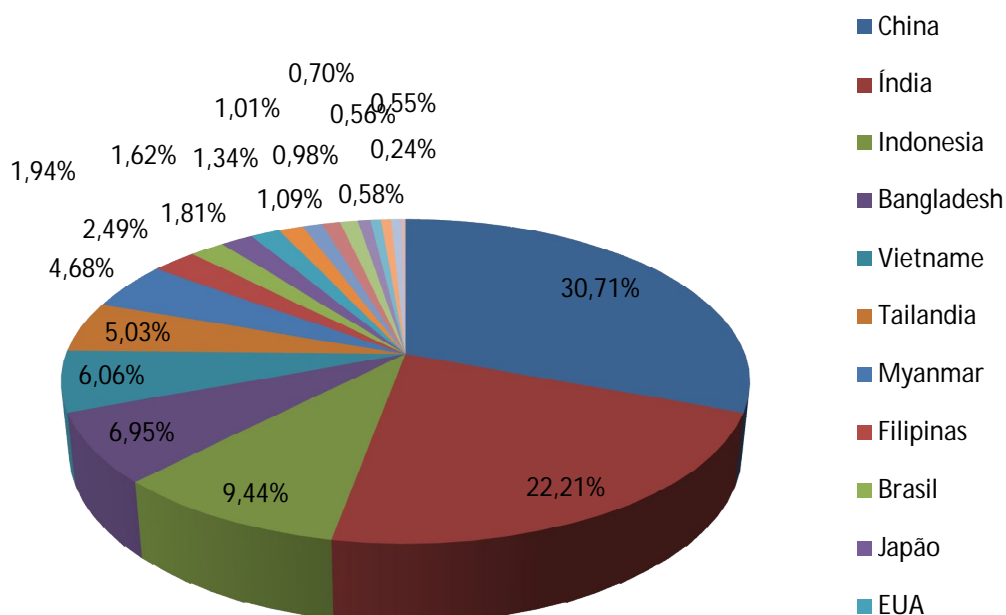
Na Tabela 3.2 apresentam-se os valores totais de produção dos principais produtores de arroz a nível mundial entre os anos 2001 a 2010.

**Tabela 4.2 – Somatório da produção da década de 2001 a 2010 para os principais produtores – fonte: (FAO, 2012).**

País	Produção de 2001 a 2010 em MT
China	1.838.379.990
Índia	1.329.603.000
Indonésia	565.001.500
Bangladesh	416.030.000
Vietname	362.567.300
Tailândia	301.434.300
Myanmar	280.323.800
Filipinas	149.245.800
Brasil	116.054.500
Japão	108.231.800
EUA	97.113.330
Paquistão	80.160.350
Coreia	65.475.850
Egito	60.721.280
Cambodja	58.786.750
Nepal	41.912.230
Madagáscar	34.762.780
Nigéria	33.725.350
Sri Lanka	32.800.380
Lao People's DR	14.494.460

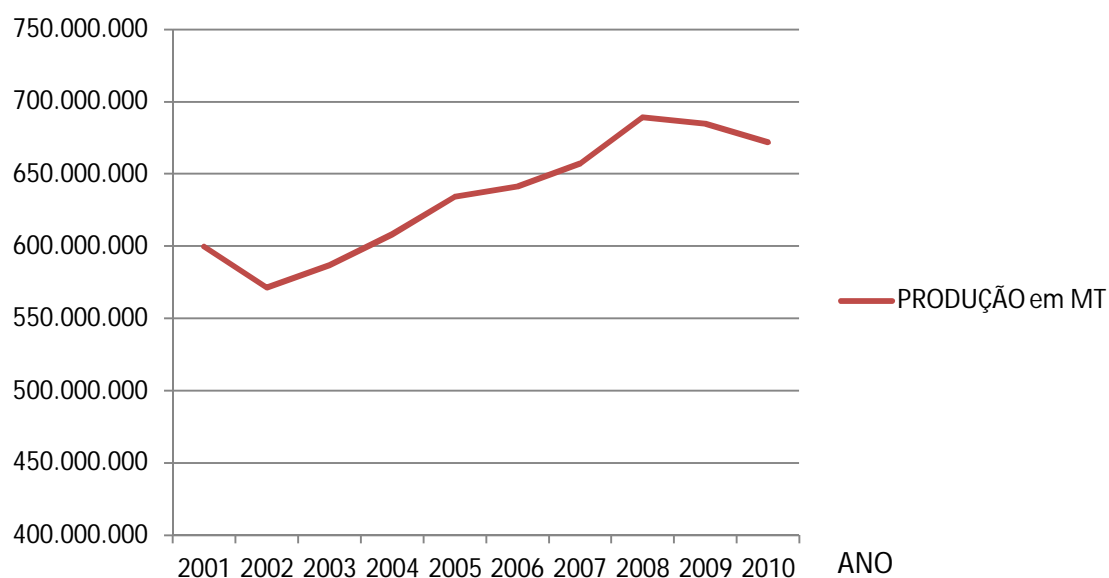
Na figura 4.6 observam-se os principais produtores a nível mundial, apresentando a China e a Índia uma proporção superior a 50% relativamente aos outros países produtores.





**Figura 4.6 – Principais produtores de arroz a nível mundial na década de 2001 a 2010 – fonte: (FAO, 2012).**

A evolução da produção mundial de arroz na última década foi de cerca de 10,74%, sendo cerca de 599.828.264 MT em 2001 e 672.015.587 MT em 2010. Essa evolução apresenta-se no gráfico da figura 4.7 que compila essa informação.



**Figura 4.7 – Evolução da produção de arroz na década de 2001 a 2010 a nível mundial. Fonte: (FAO, 2012)**

Relativamente ao consumo em Portugal e na Europa, os dados obtidos pela Eurostat para a década de 2001 a 2010 indicam que Portugal é distintamente o maior consumidor de arroz da Europa, como se pode constatar da tabela 4.3.

Apesar de não haverem dados disponíveis para todos os países e para todos os anos, os dados existentes permitem tirar algumas conclusões.

Portugal apresenta cerca de 17kg/ano *per capita* de arroz consumido em média, na década de 2001 a 2010, no entanto Portugal só produz cerca de metade do que precisa, segundo o ex-ministro da Agricultura António Serrano “A produção de arroz em Portugal tem vindo a aumentar, mas ainda pode crescer, embora seja difícil sermos auto suficientes”, *in* Exame Expresso, 07/03/11.

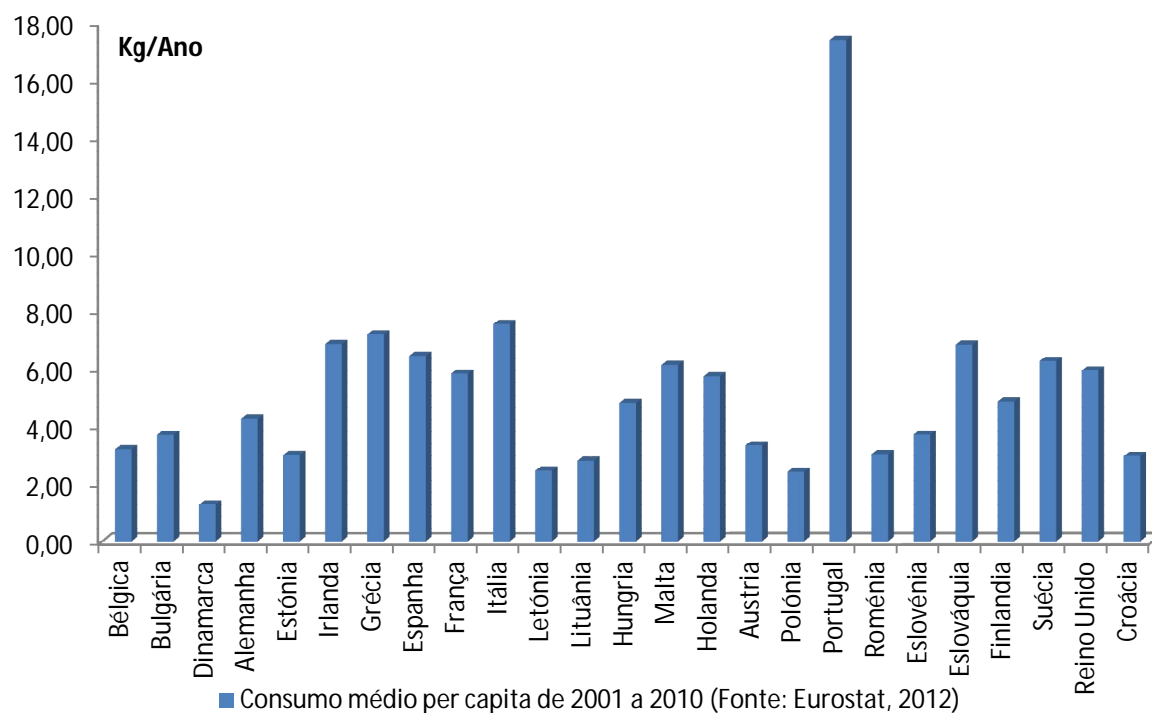
Segundo os produtores, uma das principais razões apontadas para a necessidade de importar é o facto de Portugal produzir essencialmente arroz carolino e nos últimos anos ter havido um acréscimo no consumo de arroz agulha que é essencialmente importado. De acordo com o presidente da Associação de Orizicultores de Portugal (AOP) é necessário promover o arroz carolino, utilizando a melhoria de qualidade como arma de negociação face ao mercado (Confagri, 2011).

**Tabela 4.3 – Consumo médio per capita (kg/ano) em vários países da Europa – (Eurostat, 2012).**

País	Consumo médio <i>per capita</i> Kg/ano
Portugal	17,40
Itália	7,54
Grécia	7,18
Irlanda	6,84
Eslováquia	6,82
Espanha	6,42
Suécia	6,24
Malta	6,10
Reino Unido	5,91
França	5,80
Holanda	5,70
Finlândia	4,84
Hungria	4,80
Alemanha	4,25
Eslovénia	3,68
Bulgária	3,67
Austria	3,30
Belgica	3,17
Roménia	3,00
Estónia	2,97
Croácia	2,93
Lituania	2,77
Letónia	2,45
Polónia	2,41
Dinamarca	1,26

O arroz é uma cultura milenar que representa a base alimentar de grande parte da população mundial, principalmente nos países de origem asiática. Os principais produtores desta cultura a nível mundial localizam-se na Ásia, sendo a China e a Índia os principais.

Da revisão bibliografia efectuada conclui-se que Portugal é o principal consumidor de arroz da União Europeia na última década, o que está de acordo com o gráfico da figura 4.8, porém, importa cerca de metade do que consome.



**Figura 4.8 – Consumo de arroz *per capita* na União Europeia nos vários países de 2001 a 2010 em proporção – Fonte: (Eurostat, 2012).**

## Referências Bibliográficas:

- Caixinhas, L., Espírito-Santo, D., Monteiro, A., Vasconcelos, T. (1994) - Lexicoteca - Botânica. Adaptações ao meio ambiente, comunidades vegetais e bióticas, evolução filogenética, classificação do reino vegetal. Vol II. 1ª reimp. Lexicultural. Amadora. 272 p.
- Maclean, J.L., Dawe, D.C., Hardy, B., Hettel, G.P. (2002) Rice Almanac – Source book for the most important economic activity on earth. 3<sup>rd</sup> edition. Cabi Publishing. Wallingford. UK. 253 p.
- Yoshida, S. (1981) – Fundamentals of rice crop science – 1981 Shouichi Yoshida – International Rice Research Institute, Philippines – 269 p.
- Vianna e Silva, M. (1983) A cultura do arroz. Col. Técnica Agrária. Clássica editora. Ed. 1983. 240 p.
- Paramita Bhattacharjee, Rekha S. Singhal, Pushpa R. Kulkarni. (2002) Basmati rice: a review. International Journal of Food Science & Technology. 37 (1): 1–12.

## - Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:

- Brites, C.M., Guerreiro, M., Modesto, M.L. (2006). Arroz carolino, uma jóia da nossa gastronomia. COTArroz. A cultura do arroz – Voz do Campo. <http://www.cotarroz.pt>
- A cultura do arroz no contexto nacional – dossier: A cultura do arroz (2010) Rejuvenescimento agrícola Regional. Nova agricultura: [www.projovem.drapc.min-agricultura.pt](http://www.projovem.drapc.min-agricultura.pt)
- Basmati rice: Basmati associates (Basmati rice Traders and Exporters in India): [www.basmatiassociates.com](http://www.basmatiassociates.com)
- Big money in “speciality rices” (2002) Agriculture and Consumer Protection Department. Food and Agriculture Organization of the United Nations: [www.fao.org/ag/magazine/0207sp1.htm](http://www.fao.org/ag/magazine/0207sp1.htm)
- From production to distribution. Food: from farm to fork statistics. Eurostat (European Commission Database): <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/food/data/database>
- Arroz: Produtores pedem ao Governo que lute pelo sector: <http://www.confagri.pt/Noticias/Pages/noticia33152.aspx>
- Tipos e variedades de arroz: <http://arrozeiras-mundiarroz.pai.pt>
- Mycotoxins regulations in 2003 and current developments. (2003) Agriculture and Consumer protection. FAO Corporate Document Repository: <http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>



## CAPÍTULO V

### 5. – Aflatoxinas em arroz

#### 5.1 - Legislação comunitária

A União Europeia visa garantir um nível elevado de segurança dos alimentos, saúde e bem-estar humano e dos animais e também a fitossanidade, no seio da União Europeia (UE). Essa garantia é dada por meio de medidas coerentes "desde a exploração agrícola até à mesa" e de uma vigilância adequada, assegurando simultaneamente o funcionamento efectivo do mercado interno.

A implementação desta abordagem envolve o desenvolvimento de medidas legislativas e outras acções que envolvem a criação e manutenção de sistemas de controlo eficazes e de observância das normas da UE nos sectores da qualidade e segurança dos alimentos, da saúde e do bem-estar dos animais, da alimentação animal e da fitossanidade, tanto na UE como em países terceiros, no que respeita às suas exportações para a UE.

A gestão das relações internacionais com os países terceiros e com as organizações internacionais nos domínios da segurança dos alimentos, da saúde e do bem-estar dos animais, da alimentação animal e da fitossanidade representa também uma das suas prioridades. As relações que mantêm com a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESA) permitem garantir uma gestão dos riscos baseada em resultados científicos.

As aflatoxinas são consideradas contaminantes, como tal são substâncias que não sendo adicionadas intencionalmente aos géneros alimentares podem estar presentes como resíduo da produção, do acondicionamento, da armazenagem, ou da contaminação pelo ambiente. De modo a reduzir ao mínimo possível o efeito negativo na saúde humana e animal destes contaminantes nos alimentos, a União Europeia (UE) adoptou medidas legislativas para reduzir o seu teor na alimentação. O objectivo destas medidas é obter um nível elevado de protecção da saúde pública, principalmente para os grupos mais sensíveis da população: crianças, idosos, grávidas, pessoas alérgicas, etc.

**O regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006, fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios [Jornal Oficial L 364 de 20.12.2006].**

Este regulamento fixa os teores máximos de certos contaminantes, tais como: nitratos, micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxina A, patulina e toxinas *Fusarium*), metais pesados (chumbo, cádmio, mercúrio), 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), dioxinas e PCB sob a forma de dioxina, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), bem como estanho na forma inorgânica.

Os géneros alimentícios que apresentem teores de contaminantes mais elevados que os especificados no anexo do regulamento (CE) 1881/2006 não podem ser comercializados.

Os limites máximos aplicam-se à parte edível dos géneros alimentícios, aplicando-se igualmente aos géneros alimentícios compostos, transformados, secos ou diluídos, podendo existir eventualmente a aplicação de um factor de concentração ou de diluição, ou considerar-se proporções relativas dos ingredientes no produto composto.

O regulamento fixa também os teores máximos de contaminantes ao nível mais baixo que as boas práticas agrícolas ou as boas práticas de fabrico podem permitir (ALARA, *as low as reasonably achievable*), ou seja, tão baixo quanto razoavelmente possível.

No que toca a regras de rotulagem, tanto os amendoins, como outros grãos de oleaginosas, frutos de casca rija, frutos secos, arroz e milho comercializados que se destinem a ser submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo devem incluir a menção: “produto a ser obrigatoriamente submetido a um método de triagem ou a outro tratamento físico destinado a reduzir o nível de contaminação por aflatoxinas antes de qualquer consumo humano ou utilização como ingrediente de géneros alimentícios”.

A rotulagem dos amendoins, dos outros grãos oleaginosos e dos seus derivados, bem como dos cereais, deve também indicar qual o fim a que se destina e mencionar o código de identificação do lote. Caso não exista uma indicação clara de que não se destina ao consumo humano, são aplicados os teores máximos previstos no regulamento.

Sempre que os amendoins, outros grãos de oleaginosas, frutos de casca rija, frutos secos, o arroz e o milho ultrapassem os valores máximos estabelecidos no anexo do regulamento, apenas poderão ser comercializados se não se destinarem a consumo humano e se não ultrapasarem os limites máximos aplicáveis aos produtos que se destinem a ser submetidos a um tratamento de triagem antes do consumo humano.

O regulamento fixa ainda teores máximos de aflatoxinas em alimentos destinados a crianças, sendo que os teores máximos devem ser tão baixos quanto possível, de modo a proteger a saúde deste grupo vulnerável. Estes valores são também aplicáveis a alimentos destinados a lactentes e crianças jovens. Esses alimentos estão abrangidos pelo âmbito de aplicação da Directiva 2006/125/CE e da Directiva 2006/141/CE.

As alterações aos teores máximos nos alimentos para lactentes e crianças jovens segundo o regulamento surgem para a aflatoxina B1 e para a aflatoxina M1, como se indica na Tabela 5.1:

**Tabela 5.1 – Valores máximos permitidos para AFB1 e AFM1 em alimentos específicos para crianças.**

Aflatoxina	Teor máximo em µg/kg
B1	0,10
M1	0,025

O presente regulamento foi alterado em 2010 pelo Regulamento (UE) n.º 165/2010 que visa essencialmente alterar os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios no que diz respeito às aflatoxinas. Essa alteração surgiu na sequência de desenvolvimentos do *Codex Alimentarius* e de novas informações vindas a lume em estudos científicos mais recentes.

O regulamento (UE) n.º 165/2010 estabelece um teor máximo de 2 µg/kg para a aflatoxina B1 e de 4 µg/kg para o total de aflatoxinas para todos os cereais e para todos os produtos derivados de cereais, à excepção do milho destinado a ser submetido a triagem ou a outro tratamento físico antes do consumo humano. Para esse milho foi estabelecido um teor máximo de 5 µg/kg para a aflatoxina B1 e de 10 µg/kg para o total de aflatoxinas.

Uma vez que o arroz com casca contém frequentemente teores de aflatoxinas ligeiramente superiores aos teores máximos permitidos, e uma vez que após o branqueamento esses valores decrescem consideravelmente para níveis abaixo dos limites máximos permitidos, decidiu-se definir um teor máximo mais elevado de aflatoxina B1 e do total de aflatoxinas para o arroz destinado a

triagem ou a outro tratamento físico antes do consumo humano, ou ainda a ser utilizado como ingrediente em géneros alimentícios. Assim, a tabela que estabelece os teores máximos permitidos para arroz apresenta-se como se pode verificar na Tabela 5.2.

**Tabela 5.2– Teores máximos de aflatoxinas permitidos em cereais em µg/kg, segundo a o regulamento (UE) n.º 165/2010.**

Géneros alimentícios	Teores máximos (µg/kg)		
	B1	Somatório de B1 , B2, G1 e G2	M1
i) Todos os cereais e produtos derivados de cereais, incluindo produtos derivados da sua transformação, com excepção dos géneros alimentícios referidos nos pontos ii), iii), iv)	2,0	4,0	-
ii) Milho e arroz destinados a serem submetidos a um método de triagem ou a outro tratamento físico antes do seu consumo humano ou da sua utilização como ingrediente em géneros alimentícios	5,0	10,0	-
iii) Alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebés destinados a lactentes e crianças jovens	0,10	-	-
iv) Alimentos dietéticos destinados a fins medicinais determinados, especificamente destinados a lactentes	0,10	-	0,025

No que toca a importações, o Regulamento (CE) n.º 1152/2009 da Comissão, de 27 de Novembro de 2009 impõe condições especiais aplicáveis à importação de determinados géneros alimentícios provenientes de certos países terceiros, em virtude do risco de contaminação por aflatoxinas, revogando a Decisão 2006/504/CE (Jornal Oficial L313 de 28.11.2009).

Este regulamento estabelece os teores máximos de aflatoxinas permitidos nos géneros alimentícios, para efeitos de protecção da saúde pública. Verifica-se que esses níveis máximos fixados para as aflatoxinas são frequentemente ultrapassados em determinados géneros alimentícios provenientes de certos países terceiros. Esta contaminação constitui uma ameaça grave para a saúde pública na Comunidade, sendo, pois, adequado adoptar condições especiais a nível comunitário.

Para os referidos efeitos, é importante que os géneros alimentícios compostos que contenham uma quantidade significativa dos géneros alimentícios abrangidos pelo presente regulamento sejam também incluídos no seu âmbito de aplicação. De modo a facilitar a execução dos controlos dos géneros alimentícios transformados e compostos, assegurando simultaneamente um nível elevado de eficácia desses controlos, decidiu-se aumentar o limiar estabelecido para o controlo dos produtos compostos. Pela mesma razão, o limite de 5 kg previsto para a exclusão de remessas do âmbito de aplicação é aumentado para 20 kg. As autoridades competentes procedem a controlos aleatórios da presença de aflatoxinas nos géneros alimentícios compostos que contenham menos de 20 % dos géneros alimentícios abrangidos pelo presente regulamento. Se os dados de monitorização revelarem



vários casos de incumprimento da legislação da UE no que respeita aos níveis máximos de aflatoxinas em géneros alimentícios compostos que contenham menos de 20 % dos géneros alimentícios abrangidos pelo presente regulamento, este limiar deve ser revisto.

De referir, ainda o Regulamento (CE) 401/2006 da Comissão de 23 de Fevereiro de 2006 que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de micotoxinas nos géneros alimentícios.

A amostragem desempenha um papel fundamental na determinação exacta do teor de micotoxinas, que se apresentam distribuídas de forma muito heterogénea nos lotes. Por esse motivo, torna-se necessário fixar critérios gerais que o método de amostragem deve respeitar. É também necessário garantir que os laboratórios de controlo utilizam métodos de análise com níveis de desempenho comparáveis, devendo também estes respeitar critérios gerais para métodos de análise.

No controlo das micotoxinas, convém aplicar, sempre que possível, o mesmo método de amostragem a produtos do mesmo tipo. Assim, os métodos de amostragem e os critérios de desempenho para os métodos de análise a usar no controlo oficial de todas as micotoxinas deveriam ser reunidos no mesmo diploma, com o objectivo de facilitar a aplicação dos mesmos.

## 5.2 - Legislação nacional

Desde 1973 que Portugal pertence ao grupo de países que criaram legislação sobre o teor máximo de aflatoxinas em alimentos para animais, através da portaria 671/73 e da Portaria 1107/89 e posteriormente pela Portaria 62/97.

A nível da legislação portuguesa o Decreto-lei 6/83. DR 11/83 Série I de 1983-01-14 (Ministério dos Assuntos Sociais, e da Agricultura, Comércio e Pescas) fixa os limites máximos de aflatoxinas permitidas para o amendoim e outros alimentos para consumo humano.

Na legislação portuguesa, a designação de “aflatoxina” referia-se apenas à aflatoxina B1, sendo por esse motivo, imprecisa, no entanto a Portaria 16/97 já dispõe de um método oficial de análise e aproxima-se mais da legislação comunitária.

A Portaria nº 62/97 de 25-01-997 considera que a constante evolução dos conhecimentos científicos e técnicos exige a actualização do anexo I à Portaria n.º 1107/89, de 27 de Dezembro. Além disso refere que é necessário reduzir o teor de aflatoxina B nos alimentos completos destinados ao gado leiteiro, tendo em vista evitar a presença deste produto contaminante no leite.

Com o objectivo de se colocar em consonância com a legislação europeia e a necessidade de transpor para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 96/6/CE, da Comissão, de 16 de Fevereiro, relativa às substâncias e produtos indesejáveis (onde se incluem as aflatoxinas) nos alimentos simples, matérias-primas e alimentos compostos destinados à alimentação animal, a parte B do anexo I à Portaria n.º 1107/89, de 27 de Dezembro, com a redacção que lhe foi introduzida pela Portaria n.º 1208/91, de 19 de Dezembro, é então alterada em conformidade com o anexo à presente portaria, da qual faz parte integrante.

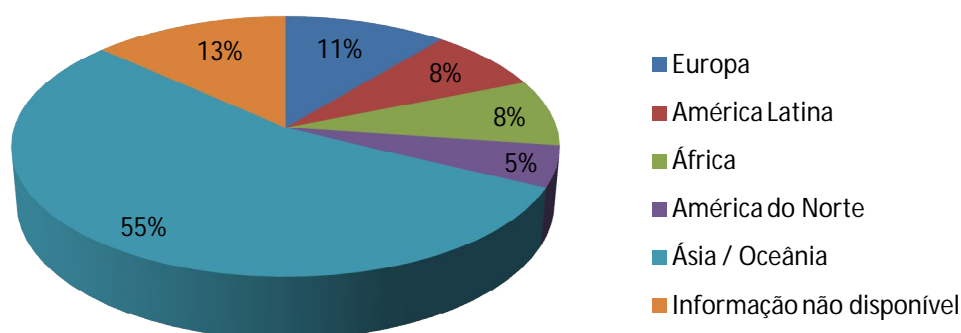
Portugal rege-se hoje pela legislação europeia no que toca a este assunto, sendo para esse efeito aplicável o regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes em géneros alimentícios.

A elaboração de normas a nível da União Europeia é crucial quando se trata de garantir a livre circulação de produtos a nível da União Europeia. No entanto, para países terceiros os valores divergem bastante, uma vez que a legislação desses países também é diferente.

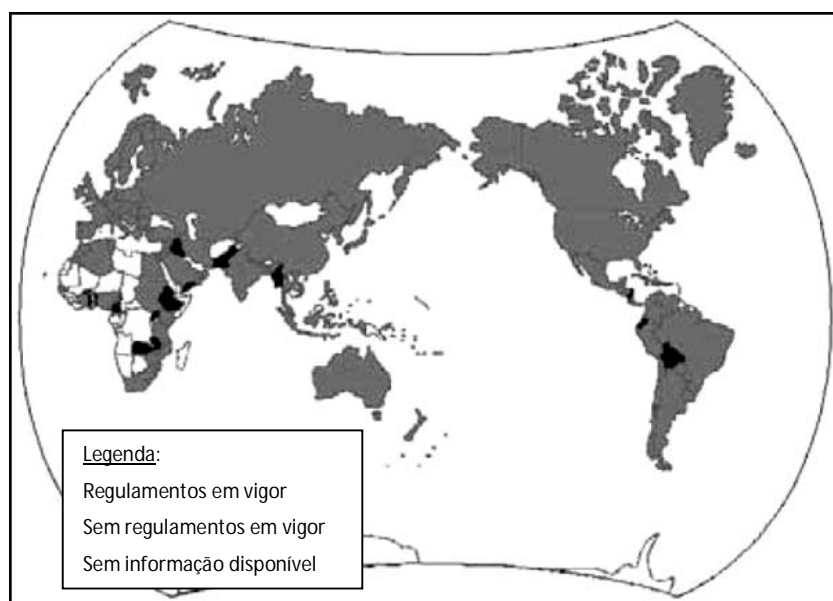
### 5.3 - Legislação noutros países

Segundo dados da FAO, em 2003 existiam 99 países no mundo com legislação que regula os limites máximos de aflatoxinas em alimentos. A população total desses países corresponde a cerca de 87% da população mundial.

O número de países que regulam micotoxinas aumentou significativamente ao longo dos anos. Actualmente são reguladas mais micotoxinas em maior número de mercadorias e produtos, enquanto os limites de tolerância, geralmente, permanecem iguais ou tendem a diminuir. A legislação tornou-se mais diversificada e detalhada devido aos requisitos mais recentes relativos aos procedimentos oficiais de amostragem e metodologia analítica. Por outro lado, tem havido uma tentativa de harmonizar a regulamentação, principalmente entre os países pertencentes a comunidades económicas como Austrália / Nova Zelândia, União Europeia, Mercosul.



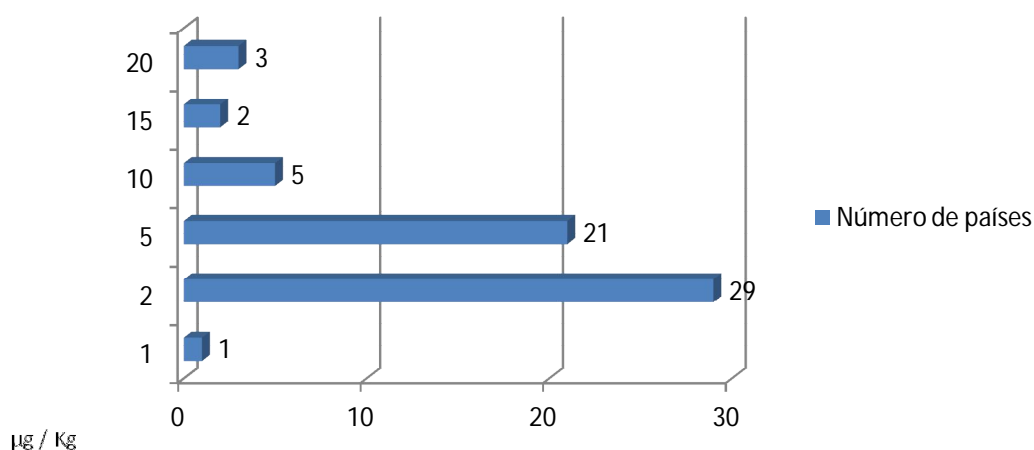
**Figura 5.1 – Percentagem da população global coberta por regulamentação sobre limites máximos de micotoxinas em alimentos em 2003 – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).**



**Figura 5.2 – Países com e sem legislação que regulamente a presença de micotoxinas em alimentos.**  
**Fonte: (adaptado de FAO, 2004).**

Os níveis máximos tolerados para a aflatoxina B1 em alimentos varia de 1-20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , consoante o país, sendo 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  um limite em vigor em pelo menos 29 países (Figura 5.3). A maioria desses países pertence à UE (onde desde 1998 os limites harmonizados para a aflatoxina B1 e a soma das aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 estão em vigor para vários produtos). Em 2003, muitos dos países candidatos à UE harmonizaram as suas regulamentações nacionais com a UE antes da sua inscrição (em 1 de Maio de 2004). Outro limite importante é visível em 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , seguido por 21 países, espalhados por África, Ásia / Oceania, América Latina e Europa. Os Estados Unidos e Canadá não têm um limite único para a aflatoxina B1, ou seja, no caso dos produtos destinados a alimentação para animais os valores são mais elevados.

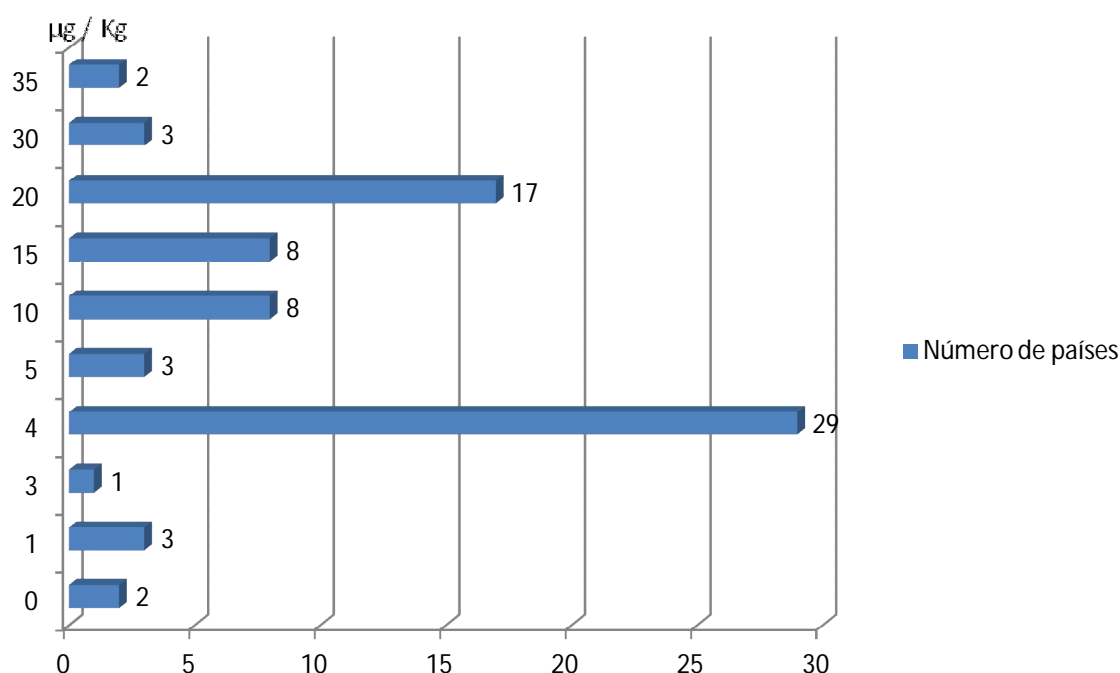
#### LMA para o teor de aflatoxina B1 em alimentos (a nível mundial)



**Figura 5.3 - Limites máximos admissíveis em  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para o teor de aflatoxina B1 em alimentos (a nível mundial) – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).**

Como se verifica na figura 5.3., o limite de ocorrência mais frequente para o total de aflatoxinas é de 4 µg/kg (aplicado por 29 países), mais uma vez um limite encontrado nos regulamentos harmonizados na UE, European Free Trade Association (EFTA) e países candidatos à UE onde os limites para a aflatoxina B1 e o total de aflatoxinas são aplicados. Outro pico principal ocorre a 20 µg / kg, aplicada por 17 países, sendo metade deles na América Latina (também um limite MERCOSUL harmonizado) e vários em África. Também os Estados Unidos, um dos primeiros países que estabeleceram um limite para os teores de aflatoxinas, seguem o limite de 20 µg/kg.

Ao longo dos anos, a "popularidade" de um limite para o total de aflatoxinas em alimentos manteve-se, resultando em 76 países no ano 2003 que aplicam os presentes níveis regulamentares, em comparação com 61 países, com um limite específico para a aflatoxina B1.



**Figura 5.4 - Limites máximos para o teor de aflatoxinas total em alimentos (a nível mundial) – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).**

Pelos dados apresentados na figura 5.4, pode verificar-se a incoerência dos valores limite de aflatoxinas a nível mundial. Este facto vem criar problemas à comercialização de determinados produtos uma vez que produtos que não são aceites num determinado país podem sê-lo noutro.

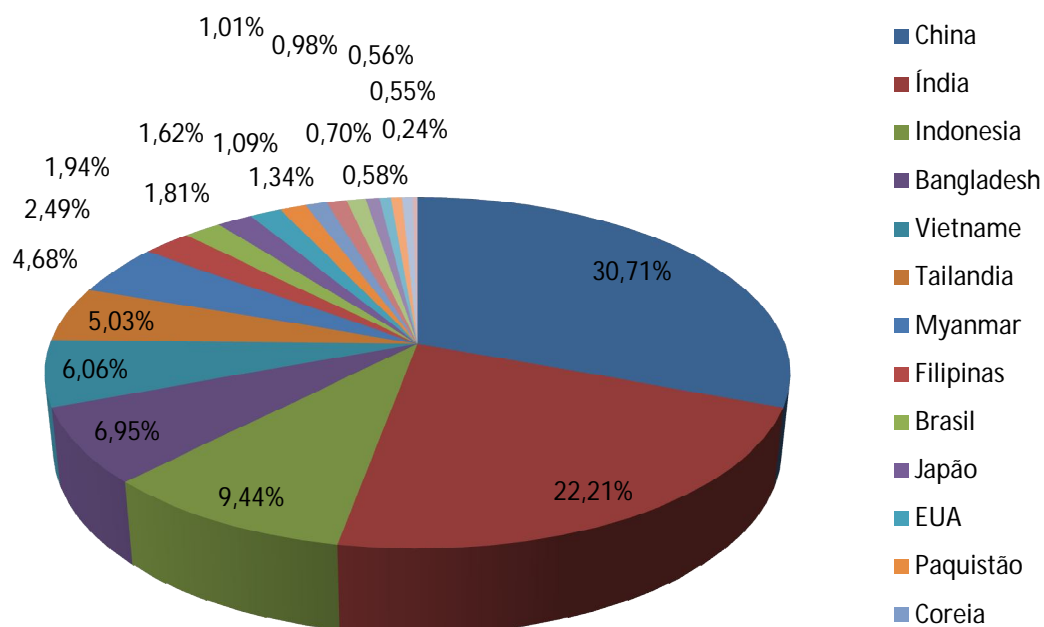
Na tabela 5.3 podem verificar-se os limites máximos admissíveis para diferentes países a nível mundial, tanto para a aflatoxina B1, como para aflatoxinas totais.

**Tabela 5.3 – Limites máximos admissíveis para aflatoxinas B1 e aflatoxinas totais em cereais para alguns países originários destes alimentos – Fonte: (adaptado de FAO, 2004).**

	Limite máximo admissível para aflatoxina B1 em alimentos (µg/kg)			Limite máximo admissível para o somatório de aflatoxinas em alimentos (µg/kg)		
País / Região	Arroz	Milho	Outros cereais	Arroz	Milho	Outros cereais
CHINA	10	20	5	S/R	S/R	S/R
GHANA	S/R	S/R	S/R	S/R	S/R	S/R
INDIA	*	*	*	30	30	30
PAQUISTÃO	S/R	S/R	S/R	S/R	S/R	S/R
SRI LANKA	*	*	*	30	30	30
TAILÂNDIA	*	*	*	20	20	20
UNIÃO EUROPEIA	2	2	2	4	4	4

\* - Apenas com informação para somatório das aflatoxinas em µg/kg

S/R - sem regulamentação em vigor



**Figura 5.5 - Principais países produtores de arroz de 2001 a 2010 a nível mundial – Fonte: (FAO, 2012).**

Como se pode ver na figura 5.5, a China e a Índia são os principais produtores de arroz. Na tabela 5.3 verifica-se que os limites máximos admissíveis para aflatoxinas nestes países são superiores aos da União Europeia, o que é preocupante quando se contrastam valores de 4 com 30 µg/kg para limites máximos admissíveis de aflatoxinas totais, no caso do arroz, por exemplo.

Já no caso de países como a Tailândia e o Paquistão que são exportadores de arroz Thai Jasmine e Basmati, respectivamente que são tipos de arroz com popularidade crescente no mundo Ocidental, verifica-se que no caso da Tailândia, o limite máximo admissível (LMA) para o total de aflatoxinas é 20 µg/kg e no caso do Paquistão não existe LMA regulamentado.

A presença de aflatoxinas nos alimentos destinados a consumo humano supõe um risco óbvio potencial para a saúde pública. No entanto, desconhece-se até que ponto se manifesta esse potencial. Porém, só o facto de existirem, constitui um motivo bastante forte para que sejam detectadas e minimizadas. Para que isso se consiga, seria importante que a regulamentação e o estabelecimento dos teores máximos residuais fosse uniforme a nível mundial, de modo a dar ao consumidor uma garantia de qualidade alimentar, independentemente da origem dos alimentos que consome.

#### 5.4 - Ocorrência de aflatoxinas em arroz– casos

Vários estudos têm sido efectuados em diferentes países com o objectivo de verificar a presença de aflatoxinas em alimentos. Neste trabalho destaca-se, particularmente as situações relacionadas com o arroz. A maioria desses estudos foram efectuados a partir de amostras recolhidas aleatoriamente em armazéns de retalho e mercados de rua (figura 4.6), muito embora existam alguns casos de recolha no campo (Hussaini *et al*, 2011).

Apresentam-se diferentes casos, uns cujos valores detectado são inferiores ao limite máximo permitido na União Europeia (2 µg/kg), como é o caso dos estudos de Carvalho (2010) no Brasil ou Tabata *et al* (1993) no Japão, onde os valores detectados são inferiores a esse limite. Já noutros países como a Turquia, Aydin *et al*, 2010, a Nigéria (Hussaini *et al*, 2011) e Vietname (Nguyen *et al*, 2007), por exemplo foram detectados níveis de aflatoxinas totais e de AFB1 superiores aos valores legislados (4 µg/kg e 2 µg/kg, respectivamente), em amostras de arroz recolhidas em supermercados e mercados de rua.



Figura 5.6 – Exemplo de mercado de venda de arroz em Manila – Fonte: (Reuters, 2012)

Na tabela 5.4 apresenta-se alguns casos de incidências de aflatoxinas em arroz nos últimos anos. Além disso, são ainda observáveis os níveis de aflatoxinas mais elevados encontrados nos estudos realizados por esses autores de diferentes países.

**Tabela 5.4 – Incidências de aflatoxinas em arroz em vários países e respectivos níveis mais elevados encontrados.**

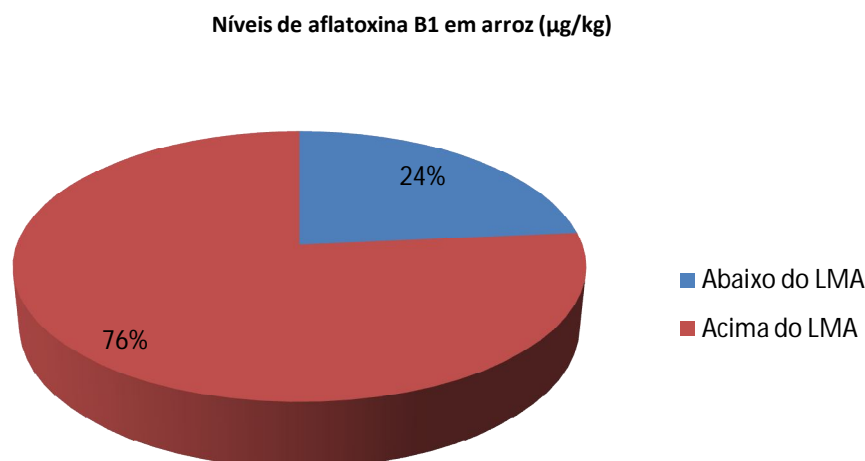
País	Nível de aflatoxina mais alto encontrado		Ref Bibl.	Ano
	B1 ( µg/kg)	Total ( µg/kg)		
Bangladesh	5	1	Dawlatana <i>et al</i>	2002
Áustria*	9,86	s/i	Reiter	2009
Índia	<2	<4	Reddy <i>et al</i>	2009
Índia	30	s/i	Toteja <i>et al</i>	2006
Índia	s/i	s/i	Pande	1990
China	<2	<4	Liu <i>et al</i>	2006
Vietname	29,82	s/i	Nguyen <i>et al</i>	2007
Filipinas	s/i	11	Sales and Yoshizawa	2005
Coreia	4,8	s/i	Park <i>et al</i>	2004
Emirados Árabes Unidos	16,5	s/i	Osman <i>et al</i>	1999
Turquia	17,2	21,4	Aydin <i>et al</i>	2010
Nigéria	34,1	72,2	Hussaini <i>et al</i>	2011
Tunísia	50	87,5	Ghali <i>et al</i>	2008
Brasil	<2	<4	de Carvalho	2010
Reino Unido*	1,8	s/i	Food Standards Agency (FSA)	2002
Irão *	10	10,94	Mazaheri	2009
Suécia*	> 2	> 4	Fredlund <i>et al</i>	2009
Japão	<2	<4	Tabata <i>et al</i>	1993
Paquistão	s/i	16,35	Iqbal <i>et al</i>	2012

**Legenda:** \* - arroz importado de outro país e comercializado neste; s/i – sem informação sobre este dado.

Na tabela 5.4 observa-se a ocorrência de aflatoxinas em arroz, relatada em vários países e por vários autores tais como Bangladesh (Dawlatana *et al*, 2002), **China** (Liu & Gao, 2006), **Vietname** (Nguyen *et al*, 2007), **Índia** (Pande *et al*, 1990; Toteja *et al*, 2006; Reddy *et al*, 2009), **Filipinas** (Sales and Yoshizawa, 2005), **Emirados Árabes Unidos** (Osman *et al*, 1999), **Tunísia** (Ghali *et al*, 2008).

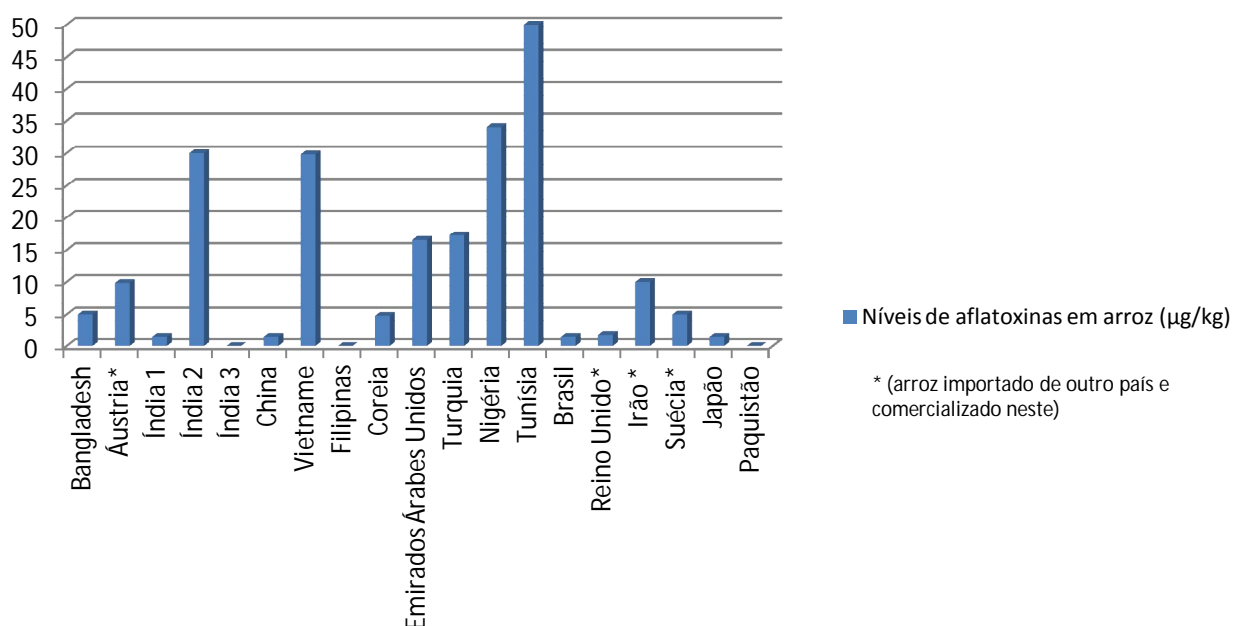
Também no arroz importado e comercializado em países como **Reino Unido** (Food Standards Agency (FSA), 2002), **Áustria** (Reiter *et al.*, 2010), **Irão** (Mazaheri, 2009) e na **Suécia** (Fredlund *et al.*, 2009; Nordkvist *et al.*, 2009) foi detectada a presença de aflatoxinas.

Da tabela 5.4 e da figura 5.7, conclui-se que na maioria dos estudos efectuados (76%) detectaram-se níveis de aflatoxinas acima do limite admissível pela União Europeia.



**Figura 5.7 – Proporção de casos de amostras com detecção de níveis de aflatoxina B1 em arroz abaixo ou acima do LMA (limite máximo admissível na União Europeia), em estudos realizados nas últimas décadas.**

Na figura 5.8 verifica-se que os valores para os níveis de aflatoxina B1 em arroz detectados em cada estudo.



**Figura 5.8 – Níveis de aflatoxinas detectados em arroz em vários países por vários autores.**



Da análise da figura 5.8, constata-se que os trabalhos cujos países apresentam maior valor para o nível de aflatoxina B1 são: a Tunísia, seguida da Nigéria e do Vietname e também um dos estudos realizados na Índia.

No caso do estudo realizado na Índia e que apresenta valores mais elevados, estes são ainda inferiores a 30 µg/kg, estando por esse motivo, dentro dos limites máximos admissíveis na Índia para o valor de aflatoxinas totais.

Nguyen *et al* (2007) no estudo que efectuou no Vietname refere a estação das chuvas como constituindo um factor-chave para o desenvolvimento de fungos e consequentemente o aparecimento de aflatoxinas, referindo que detectou uma maior incidência destas nessa época, em algumas províncias.

Hussaini *et al* (2011) recolheu amostras de campo, de armazém e de mercados, sendo as amostras de campo as que apresentam teores mais elevados.

Bansal citou também, outros autores que realizaram estudos noutros países, como por exemplo (Abdulkadar *et al*, 2003) que detectou presenças abaixo do limite máximo de aflatoxinas em arroz no Qatar; (Bandara *et al*, 1991 que detectaram vestígios de aflatoxinas no Sri Lanka; Shank *et al*, 1972 que refere a presença de aflatoxinas em arroz na Tailândia, (Sangare-Tigori *et al*, 2006) na Costa do Marfim, (Soares & Rodriguez-Amaya em 1989) referem resíduos de aflatoxinas em arroz no Brasil e Scudamore *et al*, 1998 refere a presença de aflatoxinas em arroz no Reino Unido.

Tendo em conta a toxicidade das aflatoxinas, bem como as suas consequências a nível da saúde e uma vez que se tem detectado a sua presença em amostras de alimentos em vários países, torna-se urgente encontrar um modo rápido de detecção destes metabolitos, de modo a evitar que estes alimentos contaminados entrem na cadeia alimentar e sejam consumidos por pessoas e animais, arrastando consigo as consequências já referidas no ponto 3.4.

Numa época em que na Europa cada vez mais se consome arroz importado, há que ter em conta esta situação, até porque os LMA na Europa são diferentes dos LMA de outros países da Ásia e de outras regiões do Globo. Além disso, nalguns países são mesmo inexistentes. Fredlund *et al* (2009) referem que a maior parte do arroz contaminado que detectaram no ensaio efectuado e que apresentava valores acima do LMA era arroz Basmati proveniente do Paquistão e arroz Thai Jasmine proveniente da Tailândia, países onde não existe LMA ou os valores são superiores aos da UE.

Iqbal (2012) no seu estudo efectuado a diferentes tipos de arroz contaminado com aflatoxinas no Paquistão refere que a percentagem de amostras de arroz contaminadas com aflatoxinas varia entre 14 e 36%, consoante a variedade. O teor de aflatoxinas encontrado também se encontra bastante acima do limite definido pela UE, pelo que segundo Iqbal, o arroz é um factor de peso para a introdução de aflatoxinas na dieta dos paquistaneses e não só, já que este país é o principal exportador mundial de arroz Basmati.

## Referências Bibliográficas

- Aydin A, Aksu H, Gunsen U. (2011). Mycotoxin levels and incidence of mould in Turkish rice. *Environ Monit Assess.* 178 (1-4): 271-280.
- Dawlatana M, Coker RD, Nagler MJ, Wild CP, Hassan MS, Blunden G. (2002). The occurrence of mycotoxins in key commodities in Bangladesh: surveillance results from 1993 to 1995. *J Nat Toxins.* 11 (4): 379-86.
- de Carvalho RA, Batista LR, Prado G, de Oliveira BR, da Silva DM. (2010) Incidência de fungos toxigênicos e aflatoxinas em arroz. *Cienc Agrotecnol.* 34: 946–952.
- Elisabeth Viktoria Reiter a,b, Florian Vouk a, Josef Böhm a, Ebrahim Razzazi-Fazeli. (2010) Aflatoxins in rice – A limited survey of products marketed in Austria. *Food Control* 21: 988–991.
- Food Standards Agency (FSA). (2002) Food Survey Information Sheet No. 22/02. Survey of retail rice for a range of mycotoxins. London (UK): FSA.
- Fredlund E, Thim A-M, Gidlund A, Brostedt S, Nyberg M, Olsen M.( 2009) Moulds and mycotoxins in rice from the Swedish retail market. *Food Addit Contam A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 26: 527–533.
- Ghali R, Hmaissia-Khlifa K, Ghorbel H, Maaroufi K, Hedili A. (2008) Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in Tunisian foods. *Food Contr.* 19: 921–924.
- Hussaini Anthony Makun & Michael Francis Dutton & Patrick Berka Njobeh & Mulunda Mwanza & Adamu Y. Kabiru. (2011) Natural multi-occurrence of mycotoxins in rice from Niger. *State, Nigeria. Mycotox Res* (2011) 27: 97–104.
- Iqbal, S.Z. ; Asi, M. R; Ariño A; Akram, N; Zuber,M. (2012) Aflatoxin contamination in different fractions of rice from Pakistan and estimation of dietary intakes. *Mycotoxin Res* 28: 175–180.
- Mazaheri M. (2009) Determination of aflatoxins in imported rice to Iran. *Food Chem Toxicol.* 47: 2064–2066.
- Nguyen MT, Tozlovanu M, Tran TL, Pfohl-Leskowicz A. (2007) Occurrence of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. *Food Chem.* 105: 42–47.
- Osman NA, Abdelgadir AM, Moss MO, Bener A. (1999). Aflatoxin contamination of rice in the United Arab Emirates. *Mycotoxin Res.* 15: 39–44.
- Pande, N.; Saxena, J.; Pandey, H. (1990) Natural occurrence of mycotoxins in some cereals. *Journal: Mycoses* 33 (3): 126-128.
- Park JW, Kim EK, Kim YB. (2004) Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B1 through food consumption. *Food Addit Contam A.* 21: 70–75.
- Reddy KRN, Reddy CS, Muralidharan K. (2009) Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B1 in rice in India. *Food Microbiol.* 26: 27–31.
- Sales A, Yoshizawa T. (2005) Updated profile of aflatoxin and *Aspergillus* section *Flavi* contamination in rice and its by-products from the Philippines. *Food Addit Contam A.* 22: 429–436.

- Tabata S, Kamimura H, Ibe A, Hashimoto H, Iida M, Tamura Y, Nishima T. (1993) Aflatoxin contamination in foods and foodstuffs in Tokyo: 1986-1990. J AOAC Int. 1993 Jan-Feb;76(1):32-5.
- Toteja GS, Mukherjee A, Diwakar S, Singh P, Saxena BN, Sinha KK, Sinha AK, Kumar N, Nagaraja KV, Bai G. (2006) Aflatoxin B1 contamination of parboiled rice samples collected from different states of India: a multicentre study. Food Addit Contam A. 23: 411–414.
- Zuoxin Liu, Junxia Gao, Jiujiang Yu. (2006) Aflatoxins in stored maize and rice grains in Liaoning Province, China. Journal of Stored Products Research. 42 (4): 468–479.

#### **- Legislação europeia consultada**

- Regulamento (CE) n.º 1881/2006, de 19 de Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios
- REGULAMENTO (CE) N.º 401/2006 DA COMISSÃO de 23 de Fevereiro de 2006 que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de micotoxinas nos géneros alimentícios.
- REGULAMENTO (UE) N.º 178/2010 DA COMISSÃO de 2 de Março de 2010 que altera o Regulamento (CE) n.º 401/2006 no que se refere aos amendoins, a outras sementes de oleaginosas, aos frutos de casca rija, aos caroços de alperce, ao alcaçuz e aos óleos vegetais.
- REGULAMENTO (CE) N.º 1152/2009 DA COMISSÃO de 27 de Novembro de 2009 que impõe condições especiais aplicáveis à importação de determinados géneros alimentícios provenientes de certos países terceiros devido ao risco de contaminação por aflatoxinas e que revoga a Decisão 2006/504/CE.
- REGULAMENTO (CE) N.º 1152/2009 DA COMISSÃO de 27 de Novembro de 2009 que impõe condições especiais aplicáveis à importação de determinados géneros alimentícios provenientes de certos países terceiros devido ao risco de contaminação por aflatoxinas e que revoga a Decisão 2006/504/CE.

#### **- Legislação nacional consultada:**

- Portaria n.º 671/73 de 8 de Outubro, p.1761
- Portaria n.º 62/97 de 25 de Janeiro, DRI, série B, 21 p.435
- Portaria n.º 16/97 de 4 de Janeiro, 3, 33-41
- Decreto lei 6/83 DR 11/83 Série I de 1983-01-14.

#### **- Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:**

- Mycotoxins regulations in 2003 and current developments. (2003) Agriculture and Consumer protection. FAO Corporate Document Repository:  
<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm>

## CAPÍTULO VI

### 6. - Dados do RASFF para casos de micotoxinas em arroz, cereais e produtos de panificação

#### 6.1 – Introdução

O sistema RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed ) que em português significa sistema de alerta rápido para alimentação humana e animal existe desde 1979.

O RASFF surgiu para fornecer às autoridades de controlo de segurança alimentar uma ferramenta eficiente para troca de informações sobre as medidas tomadas para responder a graves riscos detectados em situações de irregularidade nesta matéria. Deste modo é possível a troca de informações entre os Estados membros para que possam agir rapidamente e de uma forma coordenada em resposta a uma ameaça de saúde posta em causa por um alimento ou ração. O sistema é simples e eficiente, consistindo principalmente na existência de pontos de contacto na EFSA (European Food Safety Authority) e na ESA (EFTSA Surveillance Authority) e nos países membros, a nível nacional, que efectuam troca de informação de um modo claro e estruturado através de modelos próprios desenvolvidos.

O seu principal objectivo é actuar como uma ferramenta que facilita a transferência de informações entre fronteiras relativamente a produtos de alimentação humana e animal, entre as entidades para a segurança alimentar e a Comissão Europeia. Deste modo, é possível efectuar uma tomada de decisão mais adequada relativamente às medidas de protecção a tomar, no que diz respeito à saúde pública e à segurança alimentar dos cidadãos da União Europeia.

O sistema é gerido pela “Health and Consumers Directorate-General” da Comissão Europeia abrangendo os 27 países da União Europeia, a Comissão Europeia, a EFSA e ainda a Noruega, a Suíça, a Islândia e o Liechtenstein.

O sistema tem um serviço permanente que permite aos membros do RASFF, a emissão urgente dos alertas, bem como a sua recepção e resposta no mais breve espaço de tempo possível, através de uma plataforma de notificações para esse fim.





A natureza cada vez mais global do comércio a nível internacional, acarreta mais desafios para as autoridades de segurança alimentar que devem ter processos de verificação e controlo eficientes, de modo a que possam assegurar o mais elevado nível de segurança alimentar. O RASFF tem evitado muitas situações de risco alimentar que poderiam prejudicar a saúde dos consumidores. Só em 2011 foram efectuadas cerca de 9.157 notificações por inspectores que averiguaram amostras de alimentos e rações, tendo reportado incumprimentos com a União Europeia e com a legislação alimentar em vigor.

#### 6.2 – As Notificações RASFF

Quando é detectado um risco num alimento ou ração no mercado, o membro do RASFF que o detecte emite uma notificação de mercado.

Existem quatro tipos de notificação de mercado: **Notificações de Alerta, notificações de Informação, Rejeições fronteiriças e as notificações de notícias**, cujo símbolo se apresenta na tabela 6.1.

**Tabela 6.1 – Simbologia referente ao tipo de notificação RASFF aplicada – Fonte: (RASFF, 2011).**

Símbolo	Tipo de notificação RASFF
	Notificações de alerta
	Rejeições fronteiriças
	Notificações de Informação
	Notificações de notícias

As **Notificações de alerta** são enviadas quando um alimento ou ração apresentam um risco sério para a saúde pública e é necessário agir rapidamente. O membro RASFF que identifica o problema deve tomar as medidas adequadas à situação, como por exemplo a retirada do produto e deve emitir o alerta. O objectivo deste tipo de notificação é dar a conhecer aos outros membros do RASFF as informações necessárias para que também estes possam verificar se têm o produto no seu mercado e tomar as medidas necessárias.

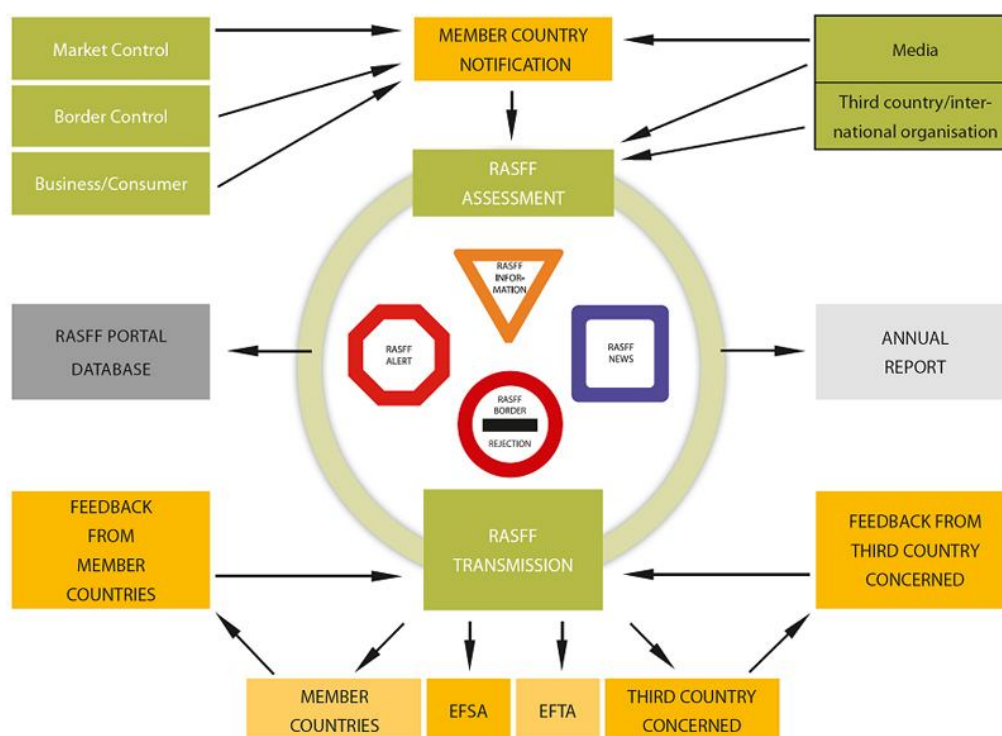
As **Rejeições fronteiriças** dizem respeito às remessas de alimentos e rações que foram testados e rejeitados nas fronteiras externas da União Europeia e do Espaço Económico Europeu (EEE) por ter sido identificado um risco para a saúde. Este tipo de notificação é enviado para todos os postos de fronteira do EEE a fim de reforçar o controlo e para garantir que o produto rejeitado não volta a entrar na União Europeia através de outro ponto fronteiriço.

As **Notificações de Informação** são emitidas quando um risco relacionado com um alimento ou ração é identificado no mercado, mas os outros membros do RASFF não têm necessidade de tomar uma medida urgente. Isso deve-se muito provavelmente ao facto de o produto não ter chegado ao seu mercado, ou já não estar presente ou ainda porque a natureza do risco não requer uma acção rápida.

As **Notificações de notícias** são informações relacionadas com a segurança dos produtos alimentares e rações que não foi comunicada como um alerta ou uma notificação de informação, mas que é julgada interessante para as autoridades de controlo, sendo transmitida para os membros sob o título de *Notícias*.

As notificações do RASFF são efectuadas da seguinte forma: cada membro possui um ponto de contacto designado que é responsável pelo envio de notificações RASFF à Comissão. Isso acontece quando os inspectores de segurança alimentar após recolha de amostras de um produto no mercado ou fronteira detectam alguma irregularidade nesse produto, resultante por exemplo de análises de laboratório. Essa situação é de imediato comunicada ao tal ponto de contacto designado, que em Portugal é representado pela ASAE (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica). Essa entidade encarrega-se do envio da notificação à Comissão que por fim a difunde pelos outros membros.

Na figura 6.1 observa-se uma representação esquemática do processo de notificação RASFF, abrangendo todos os intervenientes.



**Figura 6.1 - Processo de notificação RASFF, abrangendo todos os intervenientes – Fonte: (RASFF, 2011).**

### 6.3 – Responsabilidade da Comissão Europeia e dos seus membros no RASFF

O RASFF é constituído por 27 estados membros. Cada estado membro é responsável pelo bom desempenho e eficiência na aplicabilidade do sistema RASFF, tanto na sua área de jurisdição, como no interface com os restantes membros.

É necessária a existência de um sistema harmonizado de notificação entre os membros, de forma a garantir uma comunicação eficiente entre os pontos de contacto e as autoridades competentes e ainda com os pontos de contacto da Comissão Europeia, de forma a eliminar os riscos para o consumidor.

As notificações de alerta ao ponto de contacto da Comissão não podem ocorrer com qualquer atraso indevido. Mais especificamente, as notificações devem ser apresentados ao ponto de contacto da Comissão num prazo de 48 horas a partir do momento em que o risco foi relatado. O ponto de contacto da Comissão é necessário para transmitir o alerta a todos os membros da rede no prazo de 24 horas após a recepção (e após a verificação da mesma).

Todos os membros do sistema asseguram o funcionamento 24 horas por dia, para que, no caso de surgir uma notificação urgente que tenha de ser feita fora do horário de expediente, os oficiais em serviço possam reconhecer a importância da informação e tomar as medidas adequadas.

Todos os membros do RASFF - onde os pontos de contacto estão identificados, podem ser consultados na Internet a partir do website da RASFF:

[http://ec.europa.eu/comm/food/food/rapidalert/members\\_en.htm](http://ec.europa.eu/comm/food/food/rapidalert/members_en.htm)

### 6.4 – A Base legal

A base jurídica do RASFF é o Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro de 2002. O artigo 50.º do presente regulamento estabelece o sistema de alerta rápido para alimentação humana e animal como uma rede envolvendo os Estados-Membros, a Comissão como membro e administrador do sistema e a European Food Safety Authority (EFSA).

Quando um dos membros desta rede tem alguma informação sobre a existencia de um sério risco directo ou indirecto para a saúde pública, esta informação é directamente enviada para a comissão da RASFF que a transmite imediatamente a todos os membros da mesma.

De acordo com o artigo 50.º, n.º 3 e 4 do regulamento (CE) n.º 178/2002 estabelecem-se os critérios adicionais para quando uma notificação RASFF é necessária.

Sem interferir com nenhuma outra legislação, deverá imediatamente informar a comissão no sistema de alerta rápido sempre que se tomem medidas que consistam em:

- Qualquer medida adoptada que vise, restringir a colocação no mercado ou impor a retirada do mercado ou ainda a recolha de alimentação humana ou animal, a fim de proteger a saúde pública e exigindo acção rápida;
- Qualquer recomendação ou acordo com os operadores profissionais que visam, por uma base voluntária ou obrigatória, prevenir, limitar ou impor as condições específicas relativas à colocação no mercado ou eventual utilização de alimentos ou rações que possam constituir um grave risco para a saúde humana e que exijam uma acção rápida;

. Qualquer rejeição, relacionada com um risco directo ou indirecto para a saúde pública, de um lote, contentor ou carga de alimentos ou rações por uma autoridade competente num posto fronteiriço da União Europeia;

Segundo o artigo 51.º do Regulamento 178/2002 manda a Comissão estabelecer medidas de execução para o RASFF. Estas medidas têm que incluir, a especificação, condições e procedimentos aplicáveis à transmissão de notificação e informações suplementares.

O Regulamento (CE) n.º 16/2011 estabelece essas regras de execução para o RASFF e

entrou em vigor em 31 de Janeiro de 2011. Este regulamento estabelece ainda, os requisitos para todos os membros da comissão e o modo de procedimento de transmissão dos diferentes tipos de notificações.

Existem diferenças entre notificações que exijam uma acção rápida (notificações de alerta) e outras notificações (notificações de informação e notificações de rejeição). Portanto definições destes diferentes tipos de notificações são adicionadas. Além disso, o papel da Comissão como gerente da rede é detalhado.

## **6.5 – Informação ao consumidor**

A RASFF é mais uma rede de comunicação entre os seus membros do que um serviço de informação ao consumidor, sem prejudicar este último. O papel deste visa informar os cidadãos europeus sobre questões relacionadas com a protecção da saúde pública e com a segurança alimentar.

Graças aos diferentes critérios, tais como a natureza, gravidade e a extensão do risco e também devido ao trabalho realizado pela RASFF, as autoridades de saúde pública podem tomar as medidas necessárias para informar o consumidor do estado e natureza do risco e qual o produto envolvido. Consequentemente são tomadas medidas para prevenir e diminuir a maior parte do risco ou mesmo eliminá-lo.

Através do website do RASFF, o consumidor poderá ter acesso aos relatórios anuais do sistema. Adicionalmente, o portal oferece um extenso banco de dados numa larga escala de parâmetros de pesquisa para identificar notificações anteriores e mais recentes, onde qualquer um que visite o website possa encontrar toda a informação necessária.

Os consumidores estão assim seguros de que toda e qualquer acção necessária está a ser tomada para protecção da saúde pública pelas autoridades nacionais competentes.

A fim de não provocar quaisquer acções despropositadas ou reacções desagradáveis, informação sobre marcas e operadores envolvidos não são publicadas ao consumidor, porém, já no caso do operador, essa informação é disponibilizada (produto e lote onde o risco foi identificado), uma vez que é indispensável para o produtor / fornecedor, visto que o risco pode estar presente num lote e não noutro.

## **6.6 – A importância do RASFF no caso particular das micotoxinas e aflatoxinas em alimentos - Perspectivas futuras**

A utilidade do sistema RASFF tem-se feito sentir desde que este foi desenvolvido, permitindo tirar muitas conclusões. Se por um lado serve de alerta para possíveis casos de riscos alimentares provenientes de uma dada origem, por outro permite verificar os casos mais frequentes que ocorreram num dado período.



Georgiadou *et al.*, (2012) referem que em 2010 as micotoxinas foram a categoria de riscos mais perigosos que apresentou maior número de notificações RASFF. Além disso, das 931 notificações na categoria de micotoxinas que ocorreram em 2008, 902 eram de aflatoxinas, devido ao significativo aumento de notificações de detecção de aflatoxinas em nozes e seus derivados, bem como de sementes.

No ano 2009, o RASFF reportou um total de 669 alertas ou notificações para micotoxinas, das quais 95% eram aflatoxinas e outra vez, na sua maioria (81%) em nozes, seus derivados e sementes. Deste último valor, cerca de 8,6% correspondiam a incidências em amêndoas provenientes da Austrália e dos Estados Unidos (European Commission, 2011; Rodrigues *et al.*, 2012).

Park & Bos (2007) efectuaram um estudo sobre as principais fontes de informação para a detecção dos riscos de emergência de contaminação por micotoxinas. Nesse trabalho concluíram que é importante recolher informação, no sentido de compreender os factores envolventes de anteriores casos de micotoxicoses, como por exemplo o RASFF, de modo a evitar situações de risco. Além disso refere a necessidade de monitorizar a difusão de fungos toxigénicos nas culturas mais problemáticas, a um nível local, por um determinado período de tempo. O objecto seria actuar o mais rapidamente possível, tendo sempre em conta o factor prevenção.

Tendo em conta a problemática das aflatoxinas em nozes e amêndoas em todo o mundo, Rodrigues *et al.*, (2012) realizaram o primeiro estudo de detecção de aflatoxinas em amêndoas em Portugal, tendo verificado a presença de *A. flavus* em várias amostras e a presença de aflatoxinas num teor de 4,97 µg/kg numa amostra, de entre as 21 analisadas.

Bircan (2009) refere o caso de alertas enviados pelo RASFF no período de 2003 a 2007, referentes a amostras de figos secos contaminados com altos níveis de aflatoxinas. Este autor efectuou um estudo para verificar a possível contaminação de passas de uva importadas pela União Europeia, não tendo detectado a presença de aflatoxinas nesses casos, o que está de acordo com os dados da RASFF que também não rejeitaram amostras deste tipo para este alimento nesse período.

Também os trabalhos de Mac-Donald *et al.* (1999) e de Iamanaka *et al.* (2007) estão em concordância com esta informação, pois apenas encontraram valores muito baixos de aflatoxinas ou nenhuma ocorrência nas passas de uva.

Pietri *et al.* (2012) realizaram um estudo para detecção de aflatoxinas em frutos secos produzidos em Itália que veio confirmar a existência destas, tal como foi apontado pelo RASFF entre os anos 2010 e 2011. (Imperato, Campone, Piccinelli, Veneziano, & Rastrelli, 2011) verificaram ainda que em amostras de frutos secos importados do Canadá e da Turquia não se detectou a presença dessas micotoxinas.

Num estudo referente ao nível de aflatoxinas em nozes no Irão, Dini *et al.* (2012) verificou que o teor destas tem vindo a diminuir de 2009 até 2011, factos que condizem com a diminuição de notificações RASFF, bem como a percentagem de lotes rejeitados que também tem vindo a decrescer de ano para ano.

Num estudo realizado a 81 amostras de arroz, recolhidas em diferentes mercados de Viena, Reiter e os seus colaboradores verificaram 24 casos detectáveis de presença de aflatoxinas em diferentes tipos de arroz (Basmati, arroz integral, arroz extra-longo, etc). Entre estes casos encontravam-se três amostras com níveis de aflatoxina B1 acima do valor estipulado pela União Europeia (2,16; 2,85 e 9,86 µg/Kg).

Dessas 24 amostras positivas, 21 eram provenientes da Índia, duas provinham do Paquistão e uma do Egipto. Reiter *et al.* (2010) compararam os dados que obtiveram com as notificações do RASFF de 2008 e verificaram que os países de origem das notificações coincidiam com a origem do maior

número de amostras contaminadas que detectaram no seu estudo, Índia e Paquistão. Além disso constataram que o arroz Basmati era o principal tipo de arroz contaminado. Este estudo permitiu concluir que o arroz importado pela União Europeia pode estar contaminado com aflatoxinas, sendo importante o controlo dos lotes antes da sua entrada na União, devendo apostar em medidas de prevenção, respeitando os limites máximos admissíveis.

O RASFF permite, quando combinado com outros dados, estabelecer critérios que possibilitam a criação de métodos para detectar riscos emergentes para a segurança alimentar.

Kandhai *et al.* (2011) referiram a importância de desenvolver métodos de detecção da emergência do risco de micotoxinas relacionadas com *Fusarium* spp. em trigo. Esse método combina uma série de indicadores em diferentes estágios da cadeia, cujos valores poderiam ser utilizados no desenvolvimento de um sistema que pudesse ser utilizado por representantes da indústria e do governo para oportunamente identificar esses riscos e agir.

Com o objectivo de avaliar o nível de contaminação, seja com micotoxinas ou outros contaminantes, com antecedência ou em tempo real, tem sido colocado muito esforço no desenvolvimento de sistemas de alerta precoce, tais como o sistema de alerta rápido para alimentos e rações (RASFF) e em modelos preditivos (Kandhai, 2011, Kleter *et al.*, 2009; Marvin *et al.*, 2009).

Outro tipo de métodos têm sido desenvolvidos com o objectivo de detectar não só o risco provocado por um determinado contaminante, mas também o risco derivado de interações sinérgicas entre misturas de resíduos contaminantes que, mesmo estando individualmente abaixo do LMA, possam em conjunto constituir um risco para a segurança alimentar.

Na última década, a biotecnologia tem desenvolvido métodos transcriptómicos que oferecem novas oportunidades para efectuar um controlo baseado no risco. A base fundamental que está subjacente à utilização das técnicas transcriptómicas na detecção do risco emergente para a segurança alimentar relaciona-se com alterações tóxicas específicas da expressão génica, que podem ser detectadas através de “chips” de DNA. Além disso, as células vivas apresentam uma plasticidade adaptativa que lhes permite através de uma dada resposta característica a determinado estímulo denunciar uma “agressão”, ex: alterações genotóxicas ou citotóxicas drásticas, stress oxidativo e/ou stress químico. No entanto, estas técnicas são muito dispendiosas, implicam pessoal muito especializado e ainda estão em desenvolvimento, necessitando de ser aperfeiçoadas (Lancova *et al.*, 2011).

#### **6.7. – Dados RASFF para a presença de micotoxinas em arroz e cereais de 2000 a 2012**

Através do portal RASFF, efectuou-se uma pesquisa com o objectivo de estudar os casos de notificações por micotoxinas em arroz e em cereais, desde Janeiro de 2000 até Agosto de 2012.

Obtiveram-se 80 casos para o arroz e 291 casos para cereais e produtos de panificação, bem como outros derivados de cereais.

As tabelas referentes a ambos os casos apresentam-se no Anexo III.

## Referências Bibliográficas:

- Amedeo Pietri, Silvia Rastelli, Annalisa Mulazzi, Terenzio Bertuzzi. (2012) Aflatoxins and ochratoxin A in dried chestnuts and chestnut flour produced in Italy. Food Control 25: 601-606.
- Bircan, C. (2009). Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. Food and Chemical Toxicology 47: 1996–2001.
- Georgiadou, M., Dimou, A., Yanniotis, S. (2012) Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study. Food Control 26: 580-586.
- Iamanaka, B.T., Menezes, H.C., Vicente, E., Leite, R.S.F., Taniwaki, M.H. (2007) Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil. Food Control 18, 454–457.
- Imperato, R., Campone, L., Piccinelli, A. L., Veneziano, A., & Rastrelli, L. (2011) Survey of aflatoxin and ochratoxin A contamination in food products imported in Italy. Food Control, 22: 1905-1910.
- Katerina Lancova, Ramiro Dip, Jean-Philippe Antignac, Bruno Le Bizec, Christopher T Elliott, Hanspeter Naegeli. (2011) Detection of hazardous food contaminants by transcriptomics fingerprinting. Trends in Analytical Chemistry, 30 (2): 181-191.
- Kleter G. A, Filippi L, Marvin H.J.P. (2009) Identification of potentially emerging food safety issues by analysis of reports published by the European Community's Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) during a four-year period. Food and Chemical Toxicology. 47 (5): 932–950.
- MacDonald, S., Wilson, P., Barnes, K., Damant, A., Massey, R., Mortby, E., Shepherd, M.J. (1999). Ochratoxin A in dried vine fruit: Method development and survey. Food Additives and Contaminants 16: 253–260.
- Marvin, H.J.P., Kleter G.A., Frewer, L.J, Cope, S., Wentholt, M.T.A., Rowe, G. (2009) A working procedure for identifying emerging food safety issues at an early stage: Implications for European and international risk management practices. Food Control 20: 345–356.
- Rodrigues, P., Venâncio, A., Lima, N. (2012) Aflatoxigenic Fungi and Aflatoxins in Portuguese Almonds. The Scientific World Journal. Volume 2012, Article ID 471926, 9 pages .doi:10.1100/2012/471926.

## Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:

- The Rapid Alert System for Food and Feed – 2011 Annual Report: Publications Office of the European Union, European Commission, Luxembourg  
[http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff\\_annual\\_report\\_2011\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf)
- Portal da database do RASFF: <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>
- Medidas de execução relativas ao Sistema de Alerta Rápido para os Géneros Alimentícios e Alimentos para Animais - Regulamento (UE) N. o 16/2011 da Comissão de 10 de Janeiro de 2011. Jornal Oficial da União Europeia.  
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:006:0007:0010:PT:PDF>

## **CAPÍTULO VII**

### **7. – Discussão dos resultados**

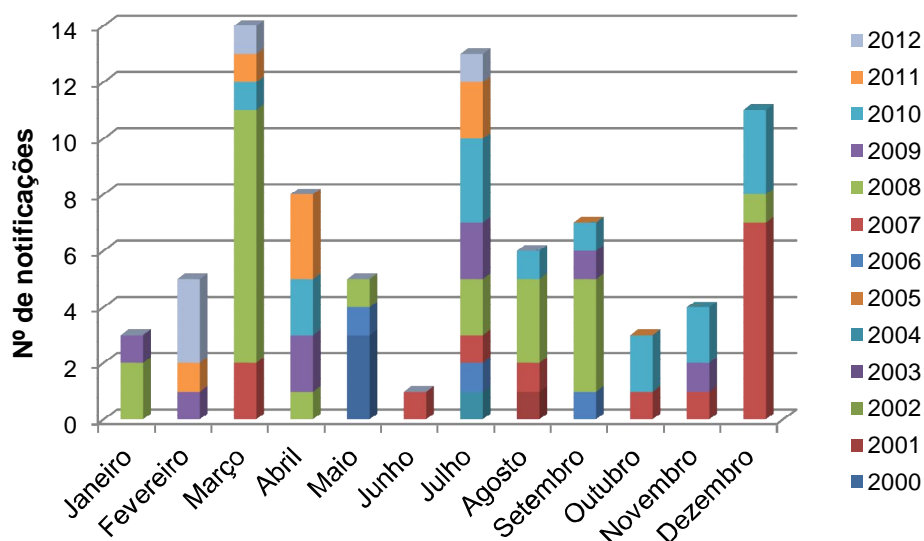
Efectuou-se a compilação das notificações de contaminação de arroz, outros cereais e seus derivados por micotoxinas registadas na base de dados do portal do RASFF, durante o período de Janeiro de 2000 a Agosto de 2012.

As variáveis analisadas para os casos de notificações pelo RASFF de contaminação por micotoxinas em arroz/cereais e produtos derivados nesse período foram:

- i. Número de notificações por mês;
- ii. Número de notificações por ano;
- iii. Tipo de notificação;
- iv. Base da notificação;
- v. Países que efectuaram notificações;
- vi. País de origem do arroz notificado;
- vii. Tipo de produto e seus alimentos derivados que sofreram notificação;
- viii. Tipo de produto e respectiva origem em caso de notificação;
- ix. Tipo de micotoxina a que se refere a notificação;
- x. Teores de aflatoxinas B1 e totais que originaram a notificação;
- xi. Países intermediários na importação de produto alvo de notificação;
- xii. Acção tomada em casos de importação de produto alvo de notificação;
- xiii. Condição de distribuição face à acção tomada;
- xiv. Países distribuidores de produtos que foram alvo de notificação.

#### **7.1 – Análise de dados RASFF referente a notificações em arroz contaminado por micotoxinas**

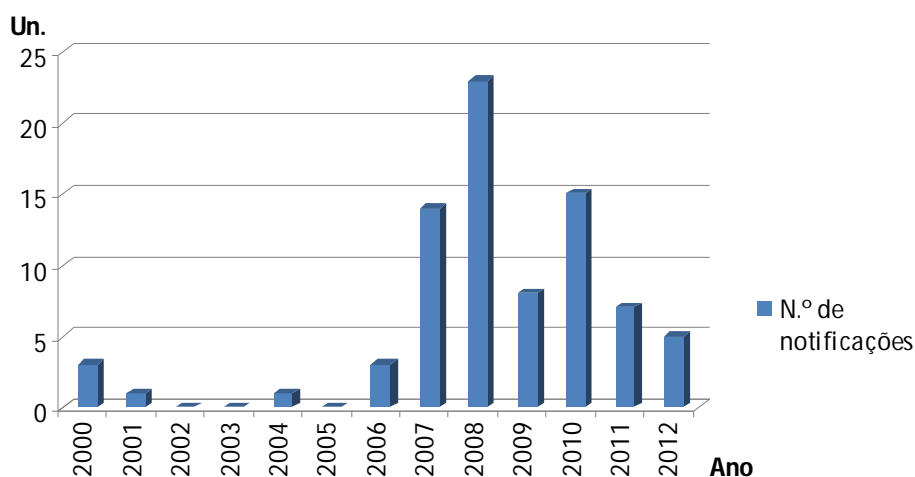
O número de notificações de arroz contaminado com micotoxinas foi maior em Março, Julho e Dezembro do que nos restantes meses do ano. No caso do mês de Março este valor elevado deveu-se a um aumento do número de notificações registadas no ano 2008, enquanto no mês de Dezembro ocorreu um contributo maior das notificações registadas em 2007 (Figura 7.1).



**Figura 7.1** – Número de notificações referentes a micotoxinas em arroz, por mês no período de 2000 a 2012.

Já no mês de Julho registaram-se notificações de contaminação em mais de metade dos anos considerados. Este é o mês em que normalmente ocorrem as monções nos países da Ásia produtores de arroz pelo que poderá esse facto estar associado a uma maior ocorrência de notificações. De facto, segundo Bansal *et al.*, (2011) e Nguyen (2007) a época das chuvas constitui um factor de risco para a ocorrência de micotoxinas em arroz.

Se considerarmos o total de notificações registadas por ano verificamos que se registou um aumento acentuado do número de notificações a partir de 2007 com máximos registados nos anos 2007, 2008 e 2010. (Figura 7.2)



**Figura 7.2** – Número de notificações referentes a micotoxinas em arroz, por ano no período de 2000 a 2012.

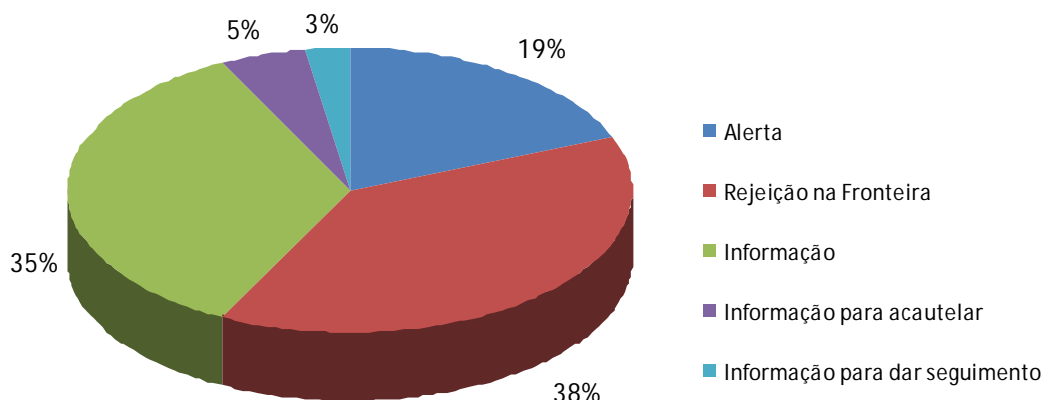
Em 2007 e 2010 registaram-se inundações de dimensão excepcional na região do Paquistão o que poderá ter afectado as condições de armazenamento de arroz neste país e noutros países produtores de arroz da mesma região. (UNICEF, 2007).

Por outro lado este aumento no número de notificações pode também dever-se a uma evolução crescente no consumo de arroz Basmati importado do Paquistão, que muitas vezes apresenta teores elevados de aflatoxinas (Bansal *et al.*, 2011; Nguyen *et al.*, 2007; Reiter *et al.*, 2010).

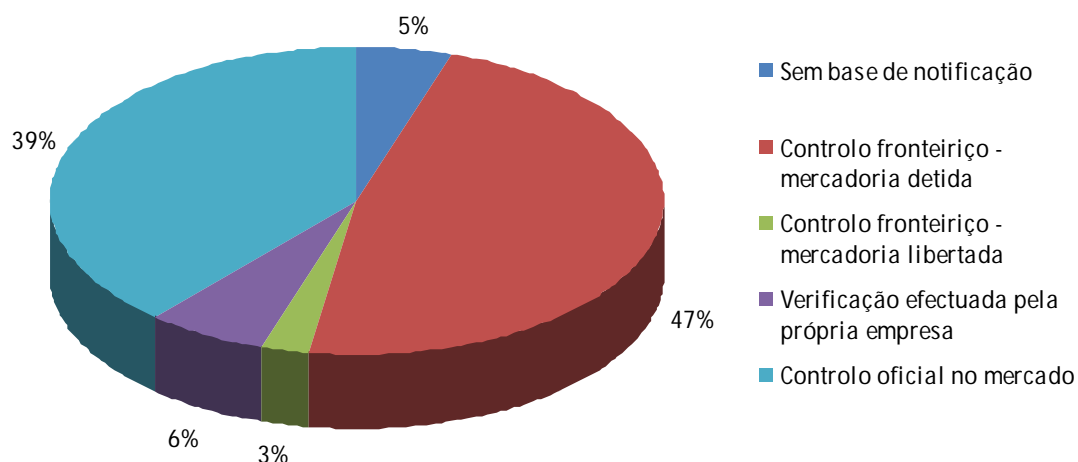
A detecção de casos de contaminação de arroz com micotoxinas dá origem maioritariamente (38% dos casos), a notificações de rejeição na fronteira; em 35% dos casos, apenas foi dada informação acerca da presença de micotoxinas em arroz. Foram efectuados alguns alertas (19% dos casos) e apenas em 8% dos casos foi tomada a medida de informação (Figura 7.3).

Da análise do gráfico da figura 7.4 conclui-se que 47% das notificações resultaram de controlos fronteiriços, vindo a mercadoria a ser detida. Além disso, em 39% dos casos, a notificação teve como base o controlo oficial no mercado. Apenas 6% dos casos de notificação RASFF foi devido a autocontrolo efectuado pela empresa importadora / exportadora.

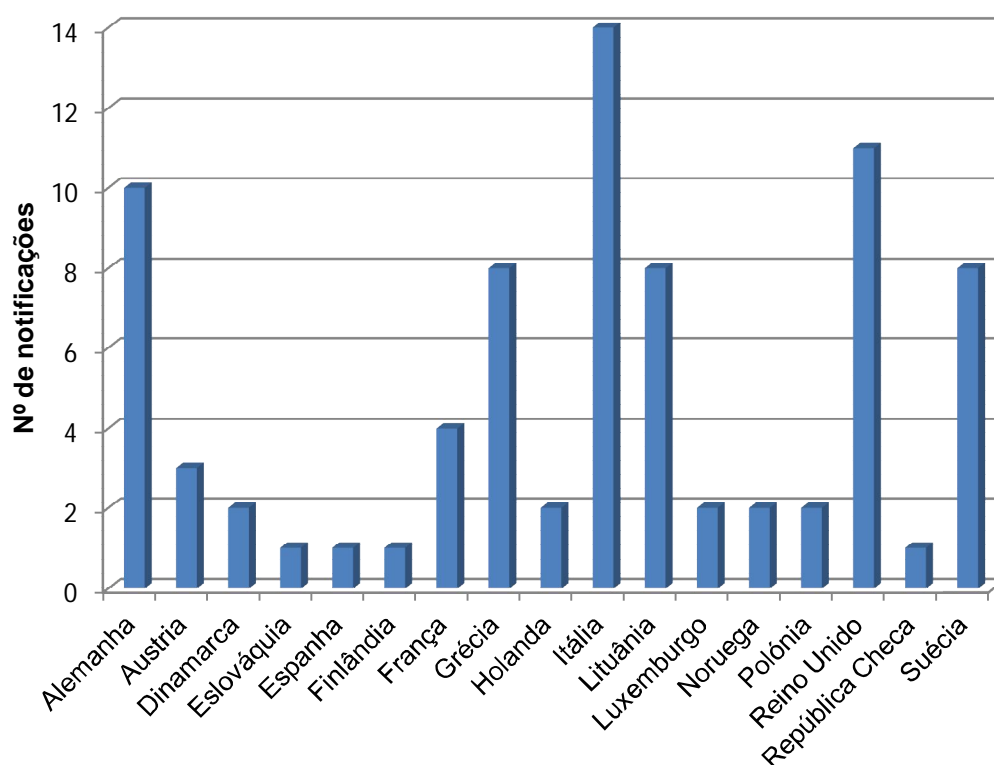
O controlo fronteiriço é normalmente o primeiro passo na cadeia de controlo da segurança alimentar pelo que não é surpreendente que seja essa a origem da maior parte das notificações. O teste dos lotes na fronteira permite a sua eventual devolução sem acarretar despesas de transporte dos lotes desde o porto até aos silos de armazenamento; assim é comum que todos os lotes sejam testados antes de serem recepcionados pelo importador. As notificações posteriores correspondem a situações não detectadas nos controlos anteriores ou desenvolvidas durante o armazenamento.



**Figura 7.3** – Tipos de notificações RASFF ocorridas de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.



**Figura 7.4** – Base de notificação RASFF que esteve na origem das ocorrências de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.



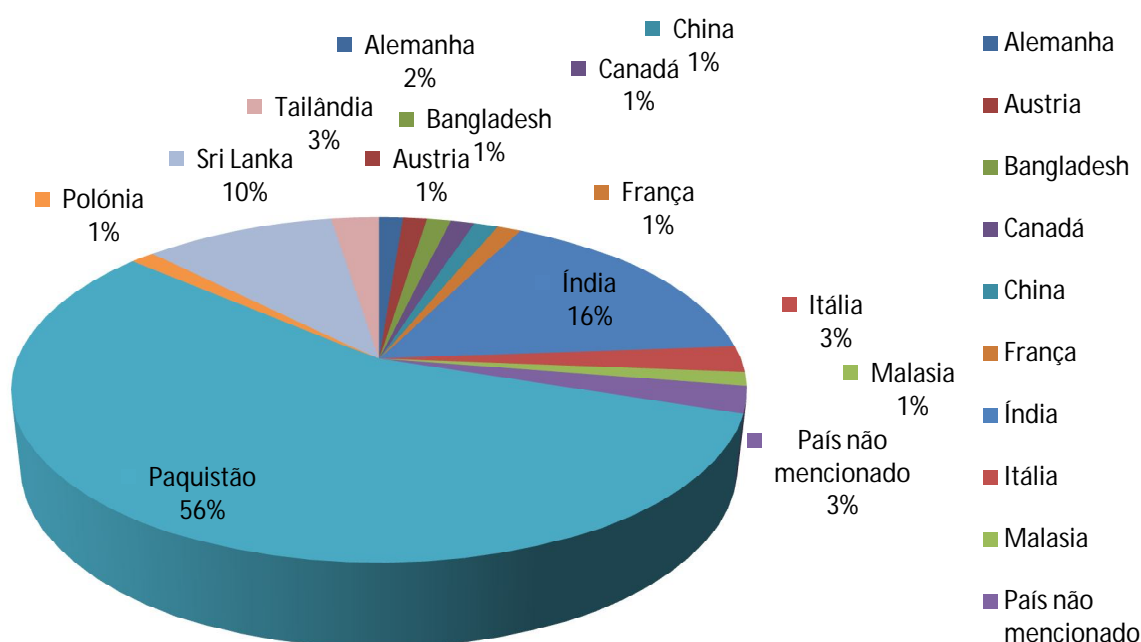
**Figura 7.5** – Número de notificações efectuadas por cada país, de 2000 a 2012 para casos de arroz contaminado com micotoxinas.

O país que efectuou mais notificações para situações de arroz contaminado com aflatoxinas, no período de 2000 a 2012 foi a Itália, seguida do Reino Unido e da Alemanha. Também a Grécia, a Lituânia e a Suécia apresentaram valores mais elevados que os restantes países (Figura 7.5).

A Itália e a Espanha são os principais produtores europeus de arroz mas apresentam valores muito diferentes no que se refere ao nº de notificações. Os países com maior nº de notificações podem reflectir maior quantidade importada ou maior importação a partir de países onde a contaminação com aflatoxinas ocorre mais frequentemente.

No período de 2000 a 2012 verifica-se que o Paquistão é o principal país de origem do arroz relativamente ao qual ocorreu um maior número de notificações pelo RASFF devido à presença de micotoxinas - 57% de todas as notificações registadas; seguiu-se a Índia com 16% das notificações e o Sri Lanka com 10% das notificações (Figura 7.6). Estes países representam 83% do total de casos, sendo os restantes da ordem de 1 a 3%. De notar que os três países de origem, onde essas ocorrências se fazem sentir, são países asiáticos, grandes produtores e exportadores de arroz a nível mundial. Ademais, tanto o Paquistão, como a Índia são reconhecidos como os principais produtores e importadores do verdadeiro arroz Basmati a nível internacional (Bhattacharjee et al., 2002).

Como já foi referido, as condições climáticas nestas regiões são propícias ao desenvolvimento de fungos dado o grande teor de humidade ambiental, as temperaturas elevadas e a ocorrência periódica de monções cuja elevada pluviosidade está frequentemente associada a extensas inundações.

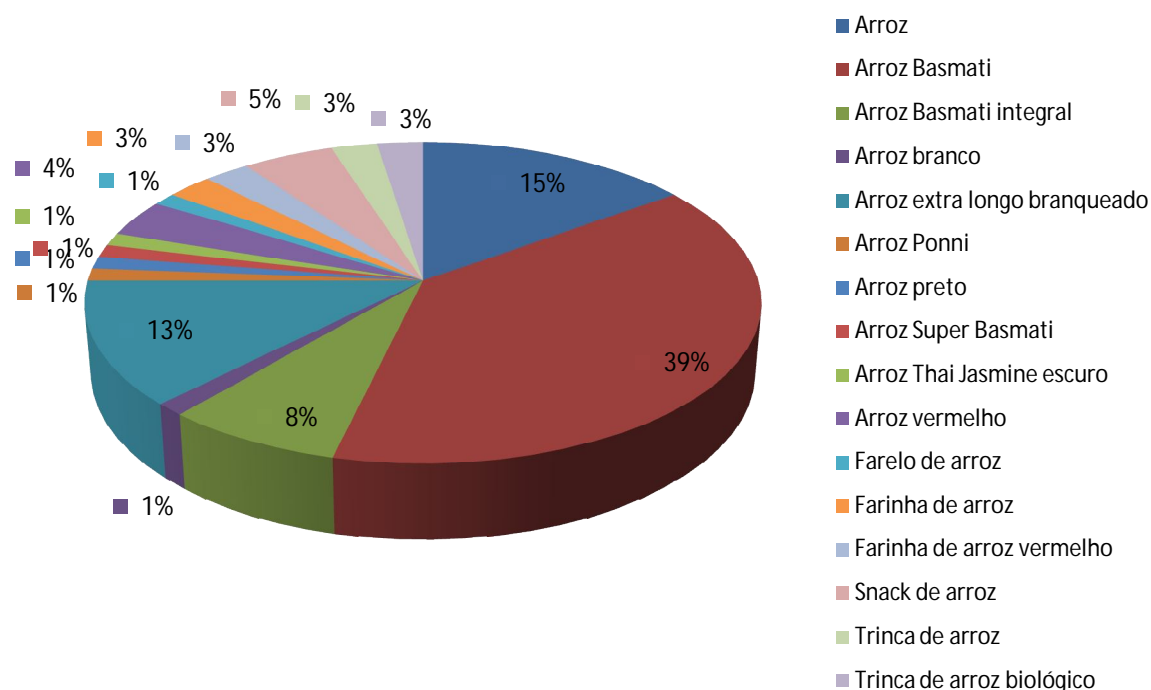


**Figura 7.6** – País de origem do arroz notificado derivado à presença de micotoxinas, no período de 2000 a 2012.

A contaminação com micotoxinas tem sido detectada em diversos tipos de arroz e de produtos derivados mas o maior número de notificações são registadas em arroz Basmati (39%), arroz sem

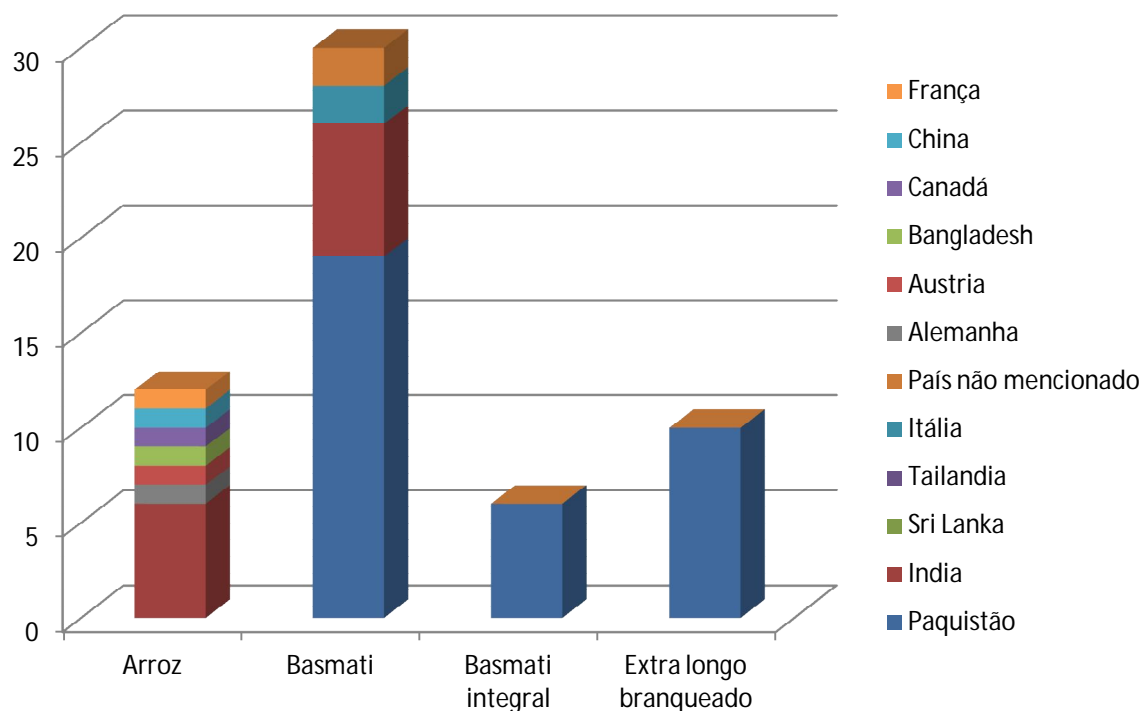


designação específica (15%), arroz extra longo branqueado (13%) e arroz Basmati integral (8%) (Figura 7.7).



**Figura 7.7** – Tipos de arroz e seus derivados em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

O arroz Basmati e o arroz Basmati integral representam aproximadamente metade dos casos de notificação por micotoxinas no período de 2000 a 2012, e o arroz sem designação específica ou o arroz extralongo branqueado podem corresponder em alguns casos a arroz Basmati ou outras formas de arroz produzido na região asiática.



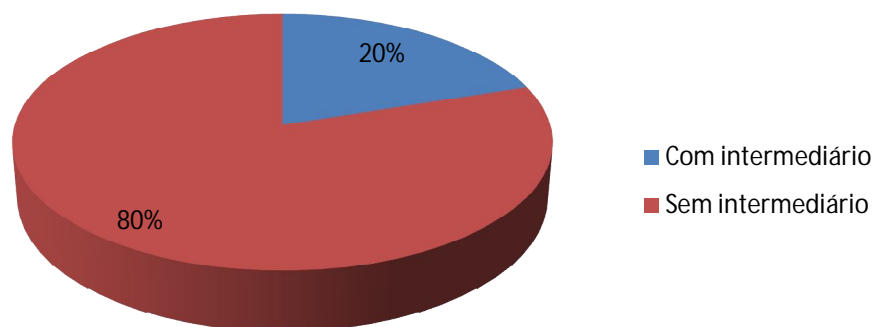
**Figura 7.8** – Tipos de arroz e respectivas origens de casos em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Na Figura 7.8 pode observar-se a distribuição das notificações relativas ao arroz Basmati, Basmati integral, extralongo branqueado e arroz sem designação específica em função do país de origem (ainda que o país de origem não seja necessariamente o país produtor). Verifica-se que a maior parte dos casos de notificação de arroz Basmati são relativos a arroz de proveniência paquistanesa ou indiana. A Itália é o país europeu produtor de arroz com maior número de notificações registadas (2). Também no caso do arroz Basmati integral e no caso do arroz extra longo branqueado, a origem das amostras notificadas como contendo aflatoxinas é principalmente paquistanesa.

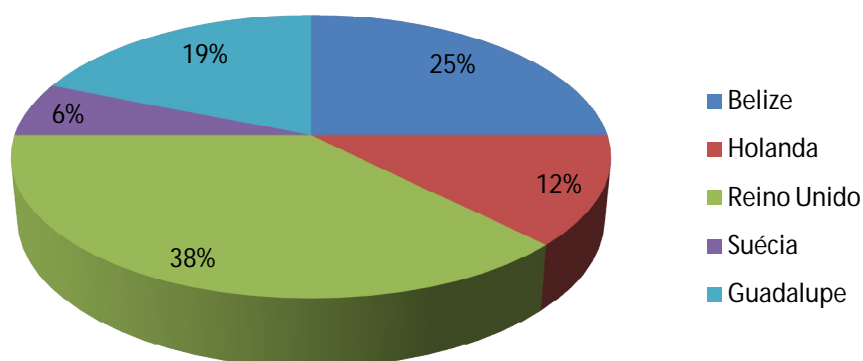
Quando se fala de arroz em sentido lato, observa-se que as origens já são mais diversificadas, destacando-se a Índia como principal país originário de arroz contaminado com micotoxinas, no entanto verifica-se a proveniência de outros países não asiáticos, como a França, o Canadá e a Áustria.

A maior parte das notificações de contaminação de arroz com aflatoxinas correspondem a situações de importação directa a partir do país produtor (80%), no entanto, as restantes notificações (20%) correspondem a amostras de arroz que não foi importado directamente do produtor tendo passado por um país intermediário (Figura 7.9).

A rastreabilidade do arroz comercializado é um princípio fundamental de controlo de qualidade e torna-se particularmente importante nestes casos de contaminações de amostras cujas cadeias de distribuição envolvem diversos países.

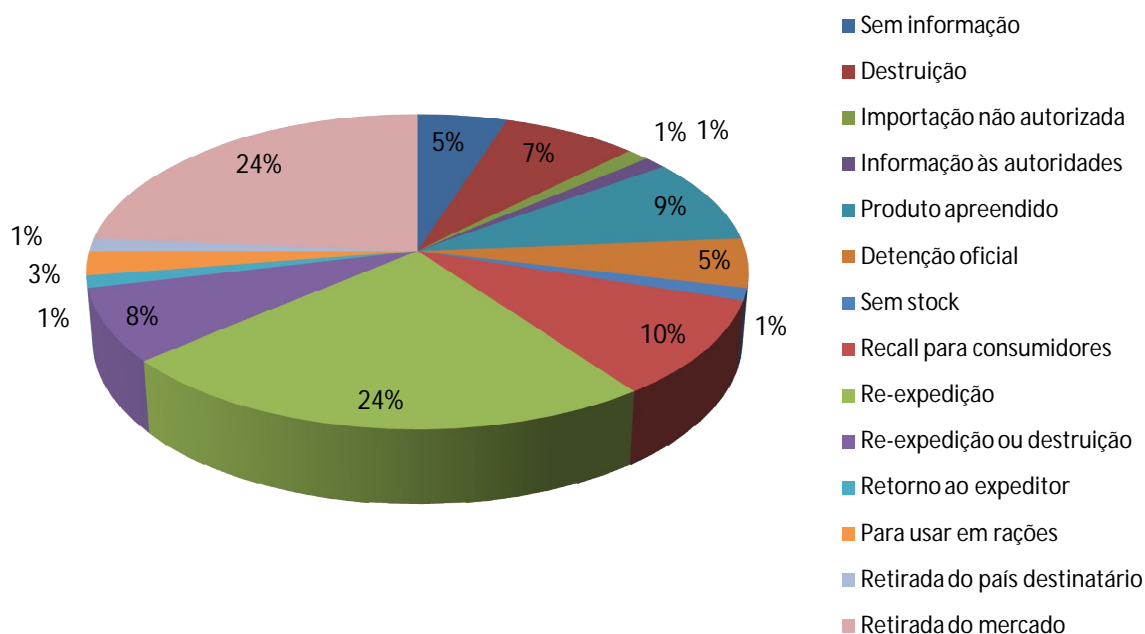


**Figura 7.9** – Casos em que houve um país intermediário na importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.



**Figura 7.10** – Países que foram intermediários na importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

O principal país intermediário nestas transacções foi o Reino Unido com 38%, seguido de Belize com 25%, Guadelupe com 19% e Holanda com 12%. A Suécia também mediou estas transacções, representando apenas 6% do total. (Figura 7.10).



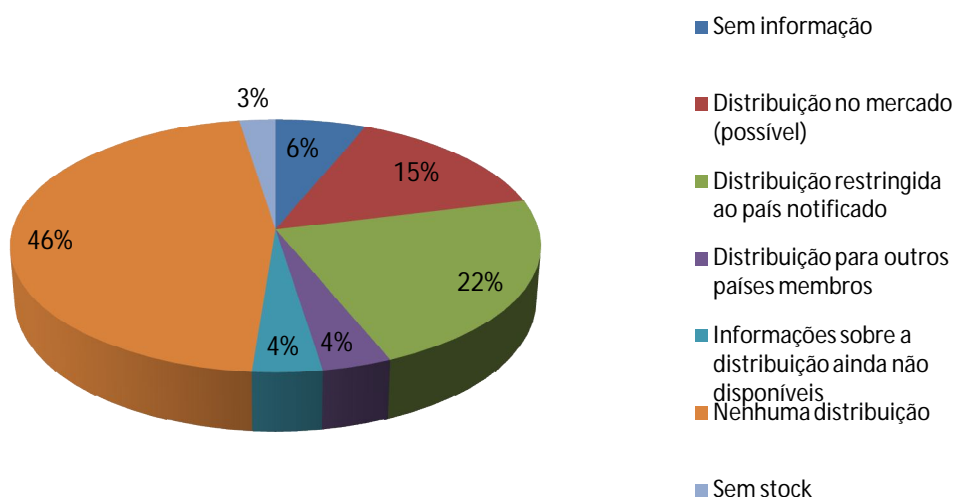
**Figura 7.11** – Acção tomada em casos de importação de arroz alho de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Nos casos em que foi detectada presença de micotoxinas em arroz foram tomadas medidas no sentido de impedir qualquer dano na saúde pública dos consumidores membros do RASFF. Como tal foram tomadas as seguintes medidas: em 24% dos casos houve re-expedição, em 24% dos casos o produto foi retirado do mercado, em 10% dos casos foi feito *recall*\* para os consumidores, em 9% o produto foi apreendido, em 8 % houve re-expedição ou destruição e em 7% houve destruição. Foram ainda tomadas outras medidas, mas com menos expressão relativamente a estas, como se observa do gráfico da figura 7.11.

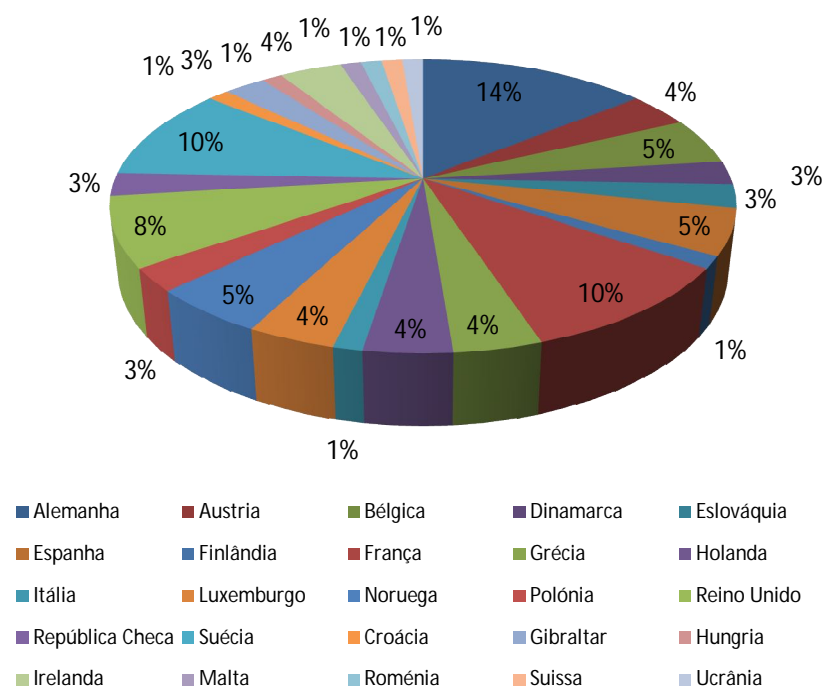
Recall é um procedimento através do qual o fornecedor informa o público consumidor sobre os defeitos detectados nos produtos ou serviços, que foram colocados no mercado de consumo, e procede-se à retirada dos produtos contaminados. Tem como objectivo preservar a vida, saúde, integridade e segurança do consumidor, bem como evitar ou minimizar qualquer tipo de prejuízo material ou moral (FAO, 2012). A maior parte das medidas referidas atrás implicam que o produto contaminado deixa de estar disponível para o consumidor prevenindo assim o risco para a saúde pública.

O estado da distribuição é influenciado pela acção tomada nos casos de notificação RASFF. Na maioria dos casos (46%) foi completamente interdita a distribuição da mercadoria em que foi detectada a presença de micotoxinas. Em 22% dos casos a distribuição da mercadoria ficou

restringida ao país notificado ou seja foi devolvida ao país exportador onde eventualmente poderá ser efectuada se esse país tiver normas menos estritas ou mesmo ausência de monitorização de aflatoxinas. O mesmo se pode verificar em 15% dos casos nos quais foi possível fazer a distribuição no mercado apesar de ter sido detectada uma contaminação (Figura 6.12). Também os casos nos quais a distribuição foi permitida noutros estados-membros (4%) decorrem de diferentes graus de exigência dos vários países-membros.



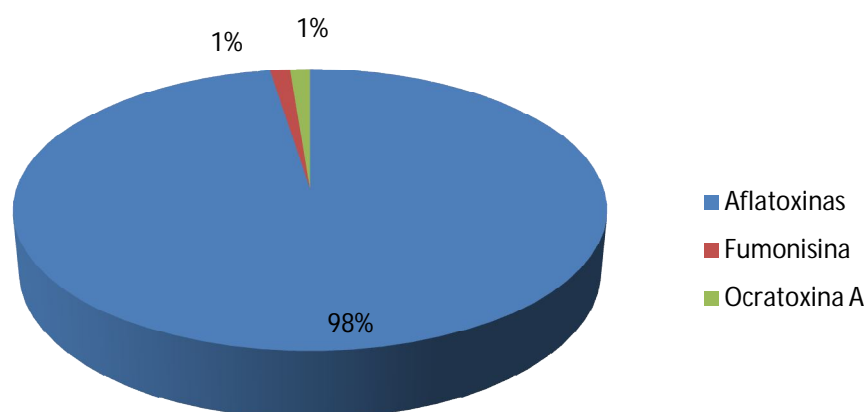
**Figura 7.12** – Status de distribuição face à acção tomada em casos de importação de arroz alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.



**Figura 7.13** – Países que distribuíram arroz com notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

No gráfico da figura 7.13 observam-se os diferentes países que efectuaram distribuição de arroz notificado pelo RASFF devido à presença de micotoxinas. O país que se apresenta como principal distribuidor em casos de ocorrências de notificação é a Alemanha (14%), seguida da França (10%), Suécia (10%) e do Reino Unido (8%).

Apesar de as aflatoxinas não serem as únicas micotoxinas cuja presença é possível ocorrer no arroz verifica-se que em 98% dos casos de arroz notificado pelo sistema RASFF a contaminação detectada envolvia aflatoxinas e apenas se detectaram dois outros tipos de micotoxinas contaminantes: fumonisinas (1%) e ocratoxina A (1%), como se pode observar na Figura 7.14.



**Figura 7.14** – Tipo de micotoxinas em casos de notificações RASFF em arroz no período de 2000 a 2012.

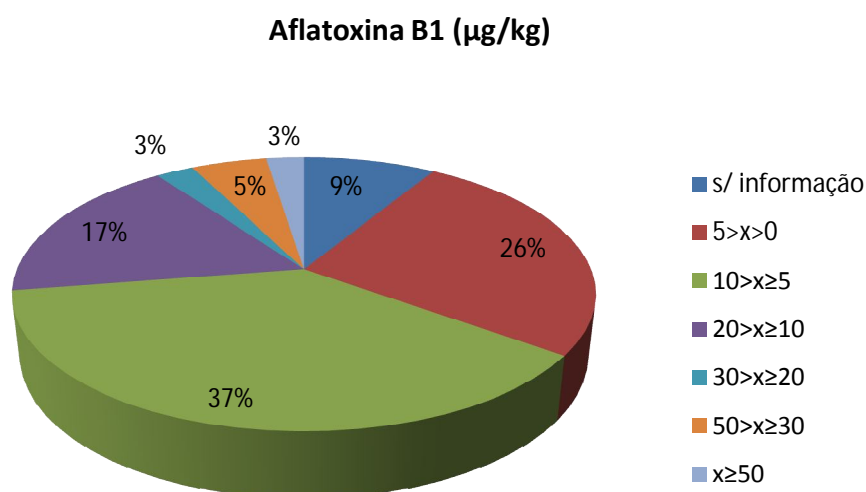
A predominância de aflatoxinas como micotoxinas contaminantes do arroz é uma consequência da natureza dos microorganismos que tipicamente contaminam esta cultura nomeadamente *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (RKMP, 2011).

Consequentemente a legislação comunitária refere especificamente valores máximos admissíveis de 4 µg/kg para o somatório das aflatoxinas B1, B2, M1 e M2 e de 2 µg/kg para a aflatoxina B1.

A análise dos casos de contaminação de arroz que foram alvo de notificação no sistema RASFF, entre 2000 e 2012, permite verificar que em mais de 65% dos casos, se encontraram teores de aflatoxina B1 entre 5 µg/kg e o limite de detecção do método analítico (Figura 7.15).

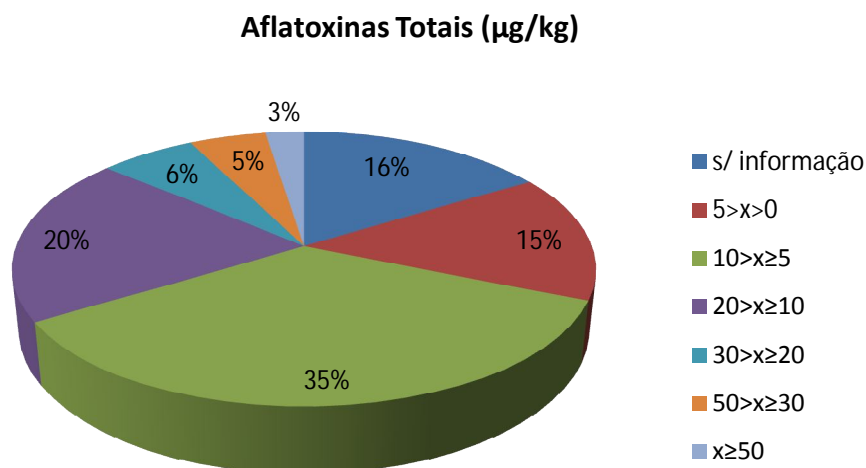
Uma quantidade significativa de amostras (54%) apresentaram teores de aflatoxina B1 entre 5 µg/kg e 20 µg/kg, enquanto 20% das amostras estavam contaminadas com aflatoxina B1 em teores superiores a 20 µg/kg.

Estes níveis de contaminação representariam um perigo considerável para a saúde dos consumidores, especialmente nos países com um consumo elevado de arroz como é o caso de Portugal.



**Figura 7.15** – Teores de aflatoxina B1 detectados nas amostras de arroz notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.

Também no caso das aflatoxinas totais, mais de 69% dos casos de contaminação notificados apresentam teores acima de 4 µg/kg, o limite máximo admissível na União Europeia, como pode ser observado na Figura 6.16. O nível de contaminação por aflatoxinas totais mais frequentemente detectado (35%) está situado entre 5 µg/kg a 10 µg/kg; no entanto, 34% das contaminações encontradas situaram-se em teores de aflatoxinas totais superiores a 10 µg/kg, e cerca de 8% ultrapassavam mesmo o valor de 30 µg/kg.



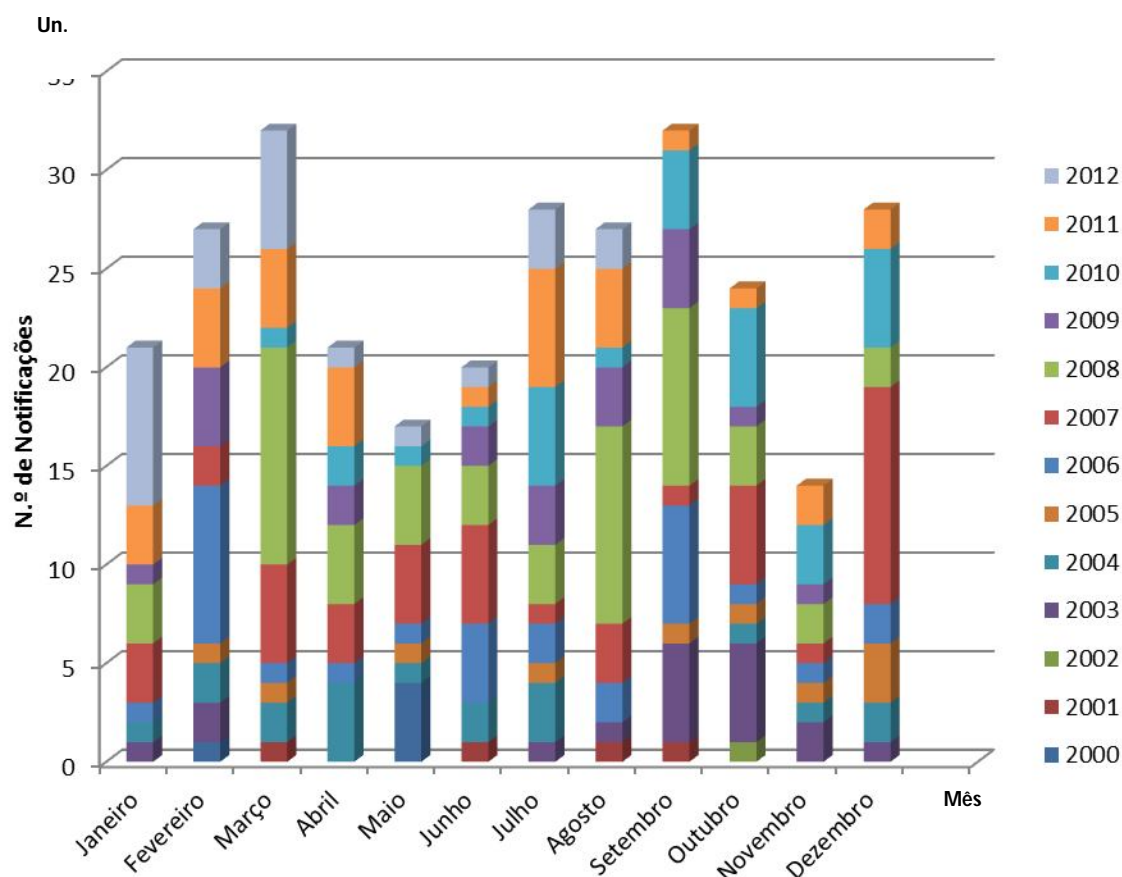
**Figura 7.16** – Teores de aflatoxinas totais em amostras de arroz, notificados no sistema RASFF, no período de 2000 a 2012.

## 7.2 – Análise de dados RASFF referentes a notificações de contaminação por micotoxinas detectadas em cereais e produtos derivados

As aflatoxinas são micotoxinas de ocorrência relevante noutros cereais além do arroz pelo que o sistema RASFF inclui dados referentes à presença de aflatoxinas e outras micotoxinas em cereais e seus derivados. Estes cereais compreendem arroz, trigo, milho, centeio, aveia, mandioca e produtos derivados destes cereais. Na segunda parte deste capítulo será efectuada a análise crítica desta informação.

Se considerarmos a distribuição das notificações de micotoxinas em cereais em função dos meses do ano, verificamos que o padrão observado é bastante diferente do observado no caso das aflatoxinas em arroz: as notificações de micotoxinas em cereais atingem valores máximos nos meses de Março e de Setembro, apresentando valores também elevados nos meses de Fevereiro, Julho, Agosto e Dezembro (Figura 7.17)

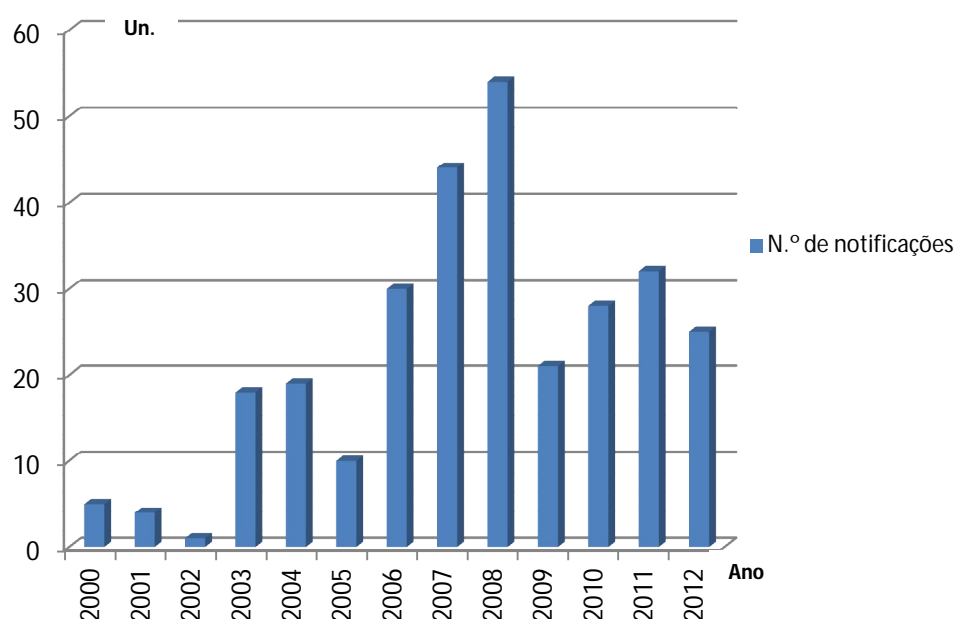




**Figura 7.17** – Número de notificações referentes a micotoxinas em cereais, por mês no período de 2000 a 2012.

Também se verifica que os meses nos quais as notificações de contaminação de cereais por micotoxinas predominam, são variáveis de ano para ano: em 2007 ocorreu uma distribuição relativamente homogênea de notificações pelos diferentes meses do ano, destacando-se apenas o mês de Dezembro; já em 2008 destacaram-se os meses de Março, Agosto e Setembro enquanto em 2012, o maior nº de notificações ocorreram em Janeiro e Março. Os dados referentes ao ano 2012 compreendem apenas o período de Janeiro a Agosto pelo que poderão ainda registar-se valores mais elevados nos restantes meses deste ano.

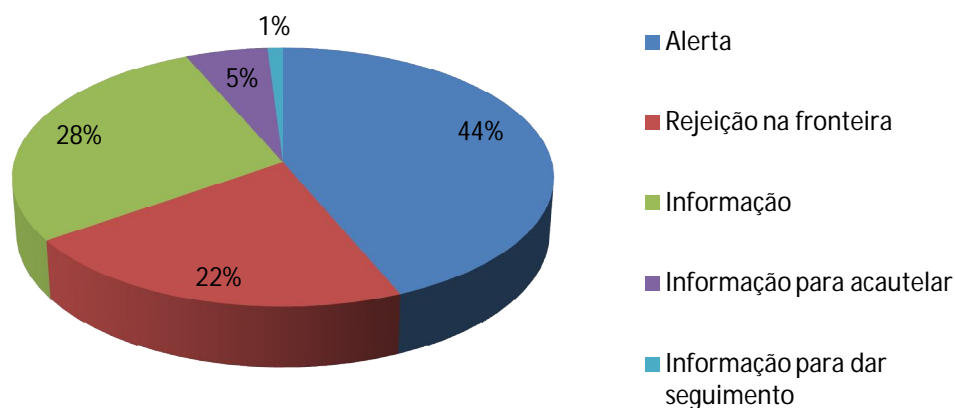
De qualquer forma, o padrão de distribuição anual da ocorrência de micotoxinas em cereais não deverá ser tão condicionado pelas condições climáticas da região asiática pois ao contrário do arroz outros cereais são também produzidos em quantidades significativas noutras regiões do globo.



**Figura 7.18** – Número de notificações referentes a micotoxinas em cereais, por ano no período de 2000 a 2012.

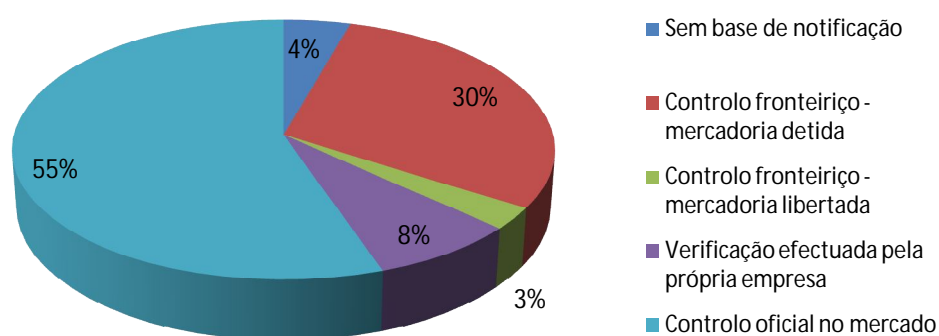
O maior número de ocorrências de casos de cereais notificados pelo RASFF no período em análise foi máximo no ano 2008 e de uma forma geral foi superior no período de 2006 a 2012 do que em qualquer dos anos anteriores. Este padrão pode reflectir um aperfeiçoamento nas metodologias de análise que permitiu aumentar significativamente o número de detecções e posteriores notificações ou corresponde a um aumento do número de ocorrências de micotoxinas em cereais o que pode ser consequência de diferentes condições de humidade, pluviosidade e temperatura nas regiões produtoras (Figura 7.18).

No período de 2000 a 2012, 44% dos casos de notificação RASFF de cereais contaminados com micotoxinas resultaram em alertas, 28% em informações e 22% em rejeições do produto na fronteira, como se observa a partir do gráfico da figura 7.19.



**Figura 7.19** – Tipos de notificações RASFF ocorridas de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminado com micotoxinas.

Das medidas que estiveram na base das notificações RASFF para micotoxinas em cereais efectuadas no período em análise, 55% estão relacionadas com controlos oficiais no mercado, 30% devem-se a controlo fronteiriço, tendo a mercadoria ficado detida. As verificações efectuadas pelas próprias empresas apenas representam 8% do total, como se verifica do gráfico da Figura 7.20.

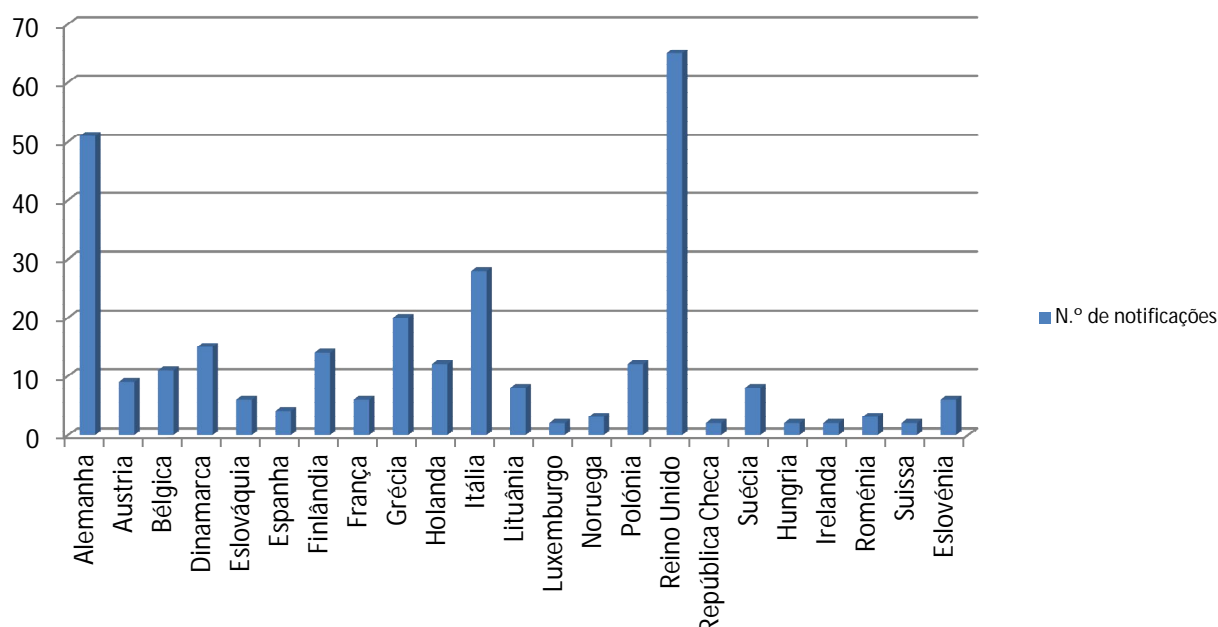


**Figura 7.20** – Base de notificação RASFF que esteve na origem das ocorrências de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminados com micotoxinas.

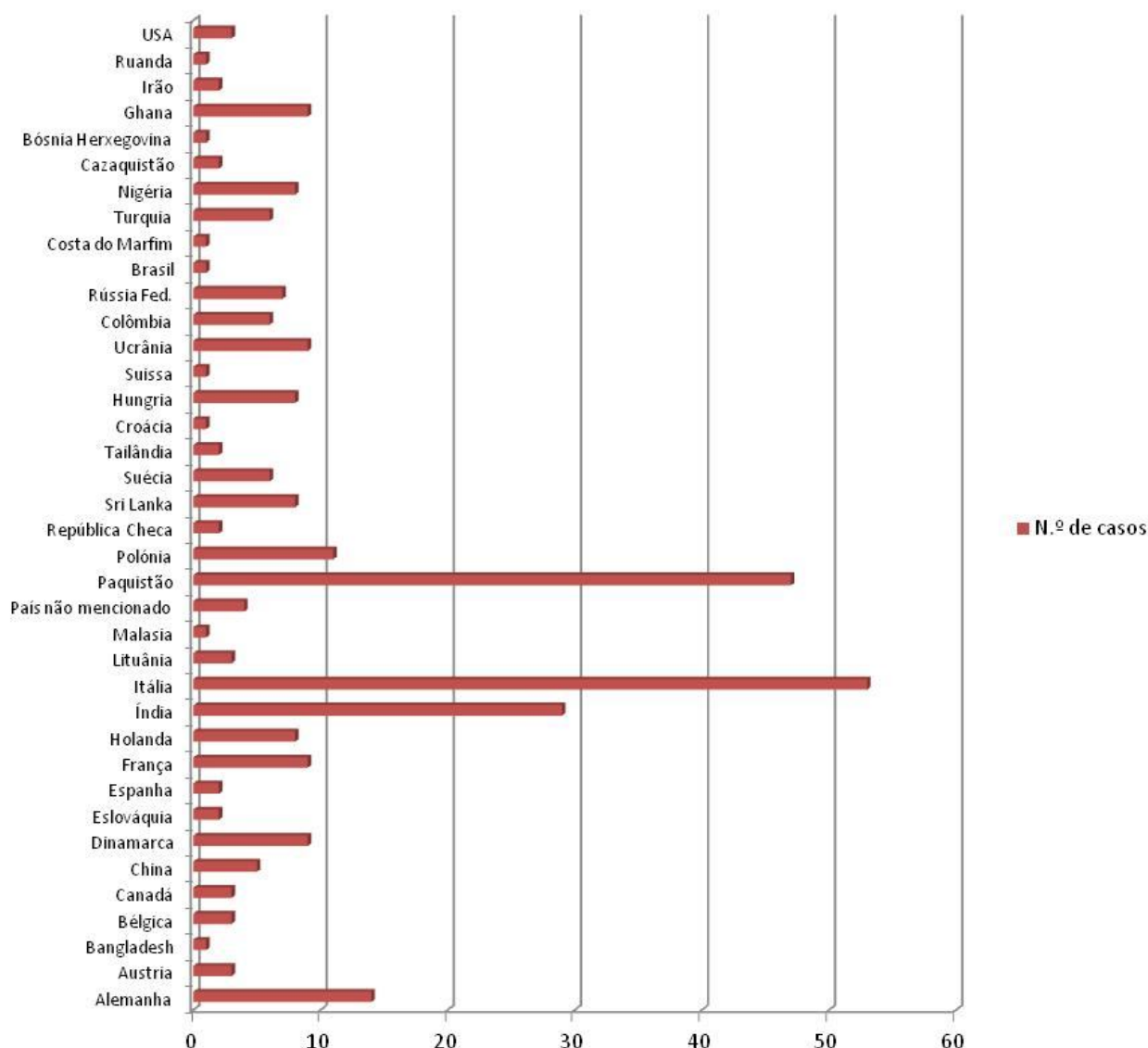
No caso das notificações relativas a aflatoxinas em arroz a base de notificação predominante foi o controlo fronteiriço predominantemente em portos marítimos pois a maior parte do arroz é importada directamente dos países asiáticos produtores e transportada por via marítima.

Já no caso das micotoxinas em cereais predomina o controlo oficial no mercado provavelmente porque a importação de outros cereais é mais diversificada, tanto em escala como em meio de transporte utilizado, sendo o controlo fronteiriço menos centralizado e eventualmente menos eficaz do que no caso do arroz.

O país da União Europeia que emitiu mais alertas RASFF para casos de cereais contaminados com micotoxinas no período de 2000 a 2012 foi o Reino Unido (>60), seguido da Alemanha (50); a Itália e a Grécia, emitiram um número bastante inferior de alertas, com valores inferiores a 30 (Figura 7.21).



**Figura 7.21** – Número de notificações efectuadas por cada país, de 2000 a 2012 para casos de cereais contaminado com micotoxinas.



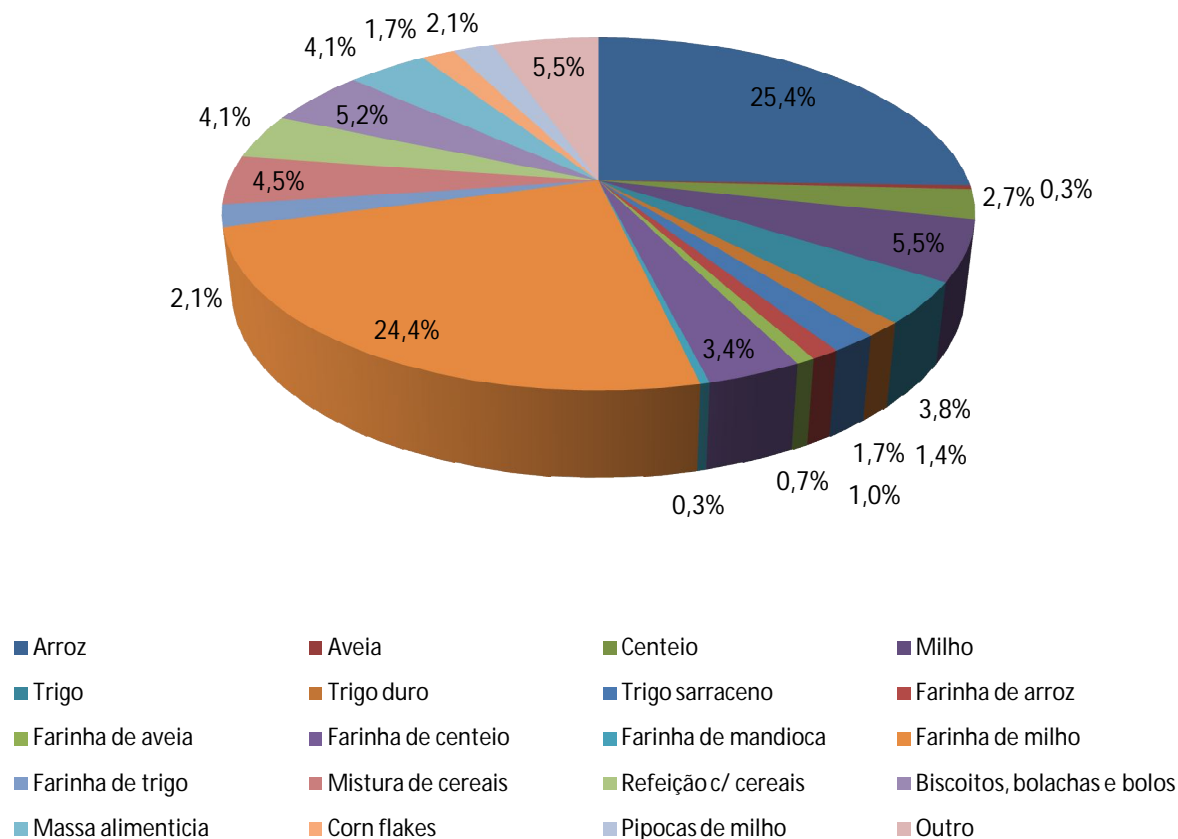
**Figura 7.22** – País de origem do cereal notificado derivado à presença de micotoxinas, no período de 2000 a 2012.

Quanto ao país de origem do cereal alvo de notificações devido à presença de micotoxinas verifica-se que a Itália ultrapassa os produtores asiáticos Paquistão e Índia em número de casos detectados (Figura 7.22).

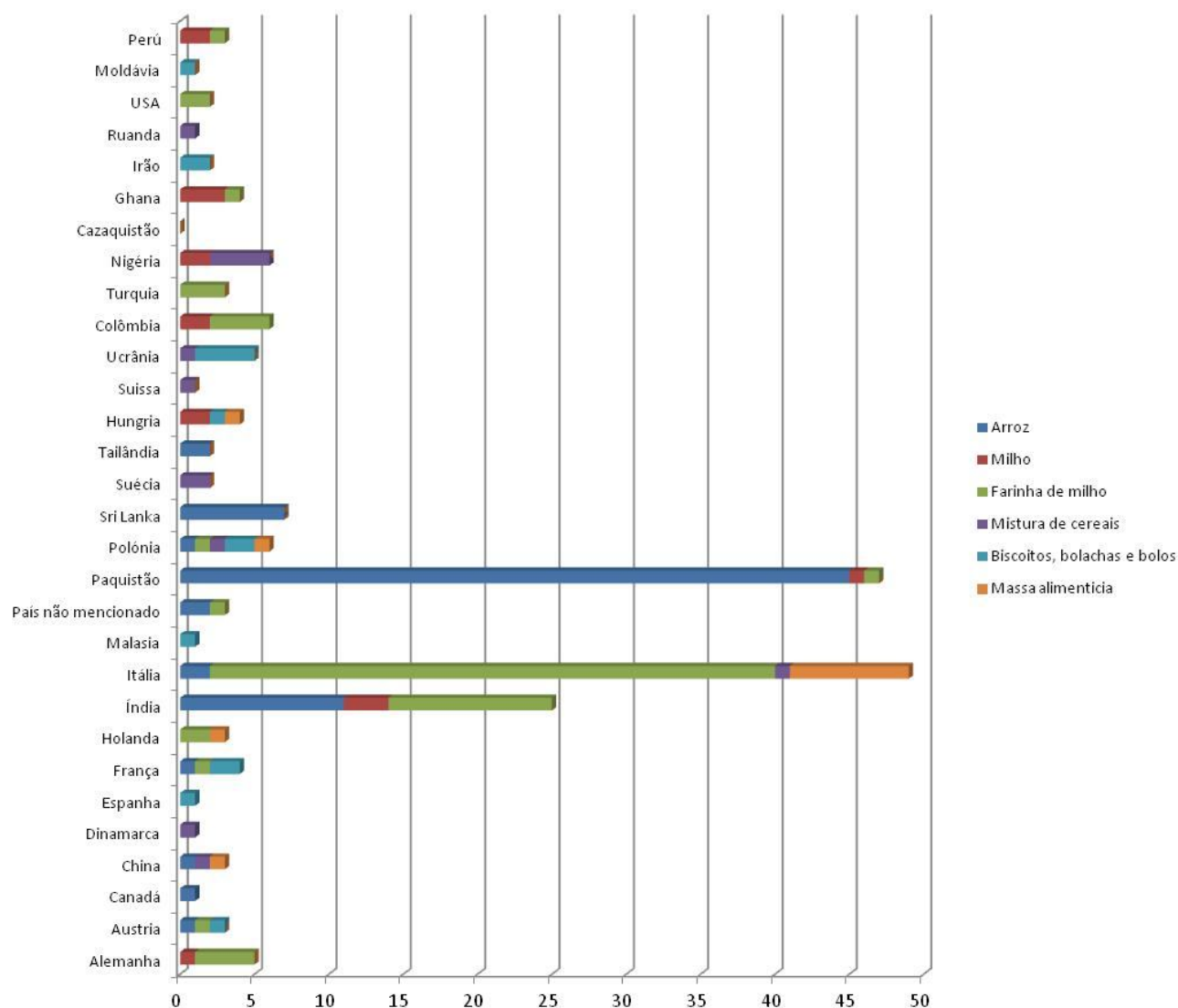
Também a diversificação dos países produtores é evidente, tendo-se registado para a maior parte destes países, com excepções da Alemanha e da Polónia, menos de 10 notificações de contaminação de cereais com micotoxinas no período em análise.

De entre os cereais considerados nesta análise os que apresentam maior incidência de contaminação com micotoxinas são o arroz e a farinha de milho, aos quais correspondem 49,4% do total das notificações (Figura 7.23). As restantes notificações (50,6%), distribuem-se pelas restantes categorias

de cereais e derivados não excedendo nenhuma destas categorias 5,5% do total de notificações registadas.



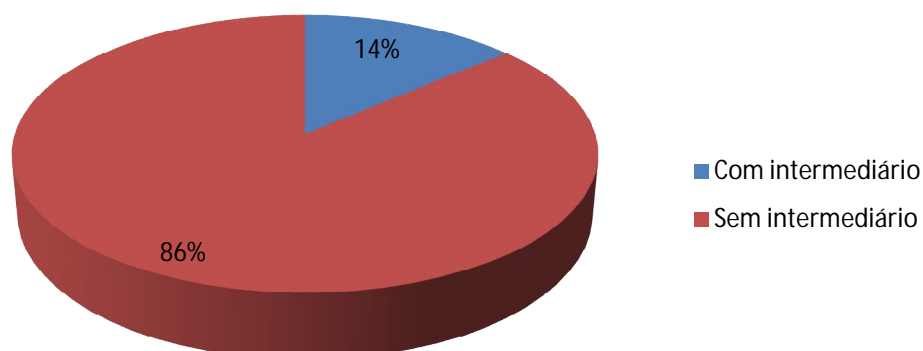
**Figura 7.23** – Tipos de cereais e seus derivados em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.



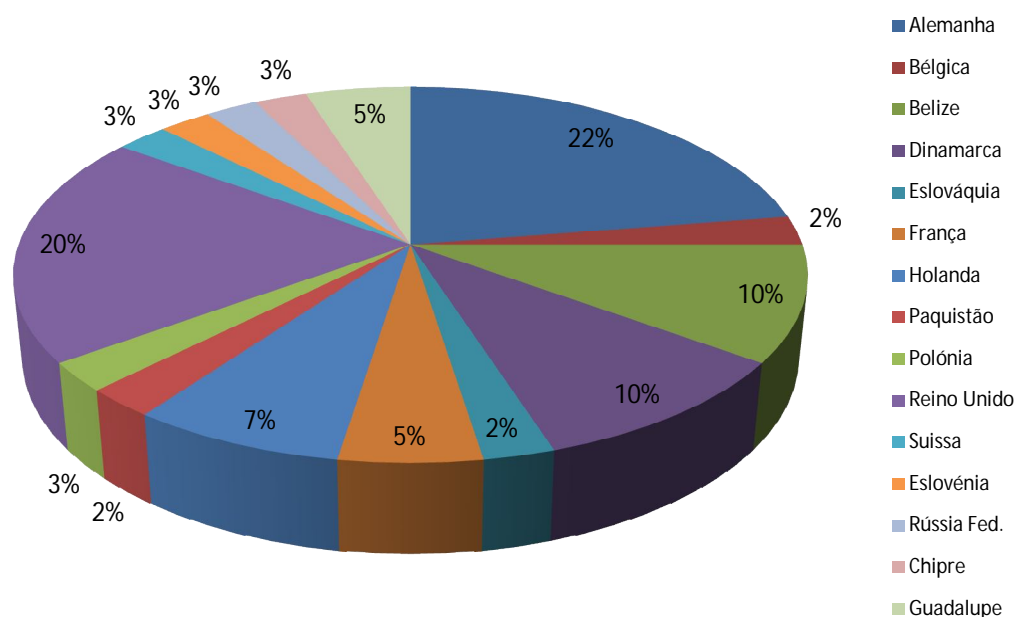
**Figura 7.24** – Tipos de cereais e respectivas origens de casos em que foram detectadas micotoxinas e que foram alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Analisando quais os cereais e derivados que apresentaram contaminações nos diferentes países de origem pode-se observar que as notificações relativas a produtos italianos correspondem maioritariamente a farinha de milho, seguindo-se as massas alimentícias enquanto no caso do Paquistão é o arroz o cereal dominante em relação ao qual se registaram a maior parte das notificações (Figura 7.24). A presença de micotoxinas em massas alimentícias provenientes de Itália, é preocupante, uma vez que se trata de um alimento típico deste país e muito popular nos restantes países europeus. Já no caso da Índia, as notificações referentes a milho e farinha de milho superam as notificações relativas a arroz.

No período de 2000 a 2012, cerca de 14% dos casos de notificação RASFF de micotoxinas em cereais correspondem a cereais importados de um país intermediário, e não directamente do produtor (Figura 7.25). Esta percentagem é inferior à obtida quando se consideram apenas amostras de arroz (20%) o que reflecte a mais fácil acessibilidade dos países europeus aos restantes cereais considerados.



**Figura 7.25** – Casos em que houve um país intermediário na importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.



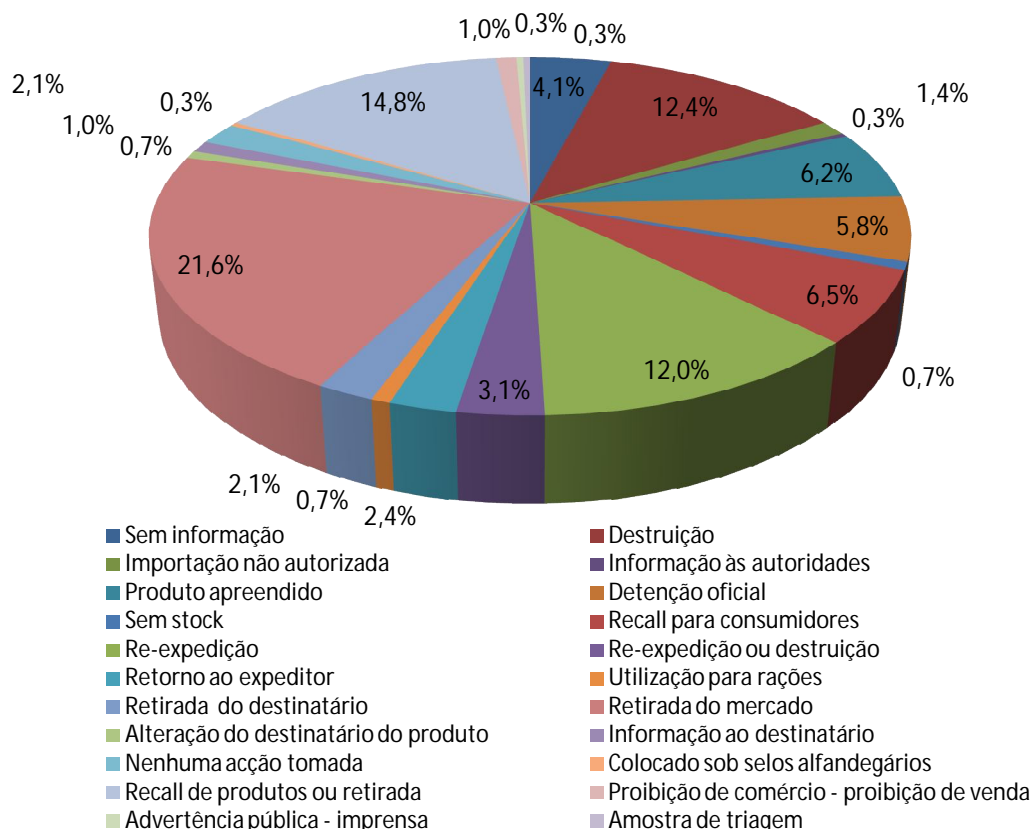
**Figura 7.26** – Países que foram intermediários na importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Da análise do gráfico da Figura 7.26 constata-se que a maior parte das notificações de micotoxinas em cereais envolvendo um país intermediário registaram-se para a Alemanha (22%), seguida do



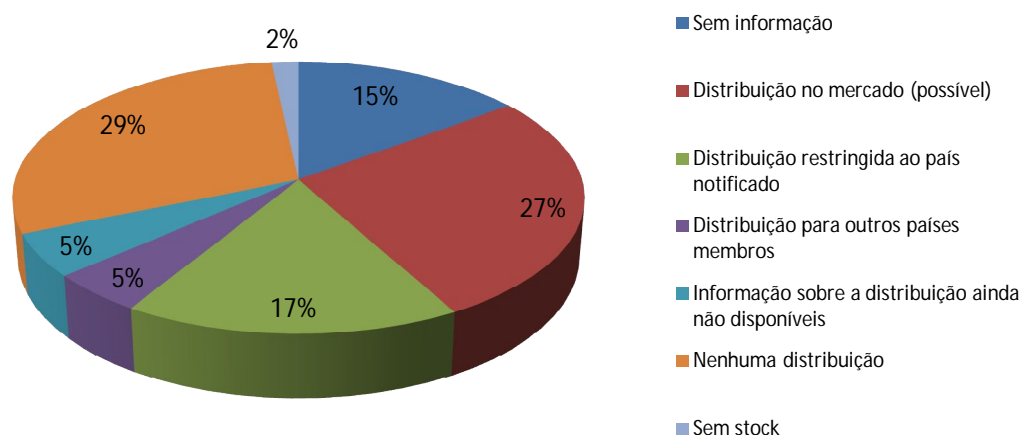
Reino Unido (20%). Belize e Dinamarca apresentam 10% dos casos, cada, e a Holanda foi país intermediário em 7% dos casos de notificação RASFF em cereais no período de 2000 a 2012.

As principais acções que foram tomadas em casos de importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012 foram em 21,6% dos casos, a retirada do mercado, em 14,8% dos casos foi o recall de produtos ou retirada, em 12,4% dos casos houve destruição do produto e em 12% houve reexpedição, como se observa do gráfico da figura 7.27.



**Figura 7.27** – Acção tomada em casos de importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Face à acção tomada, a distribuição dos cereais afectados pelas notificações foi alterada de acordo com as opções apresentadas na Figura 7.27.



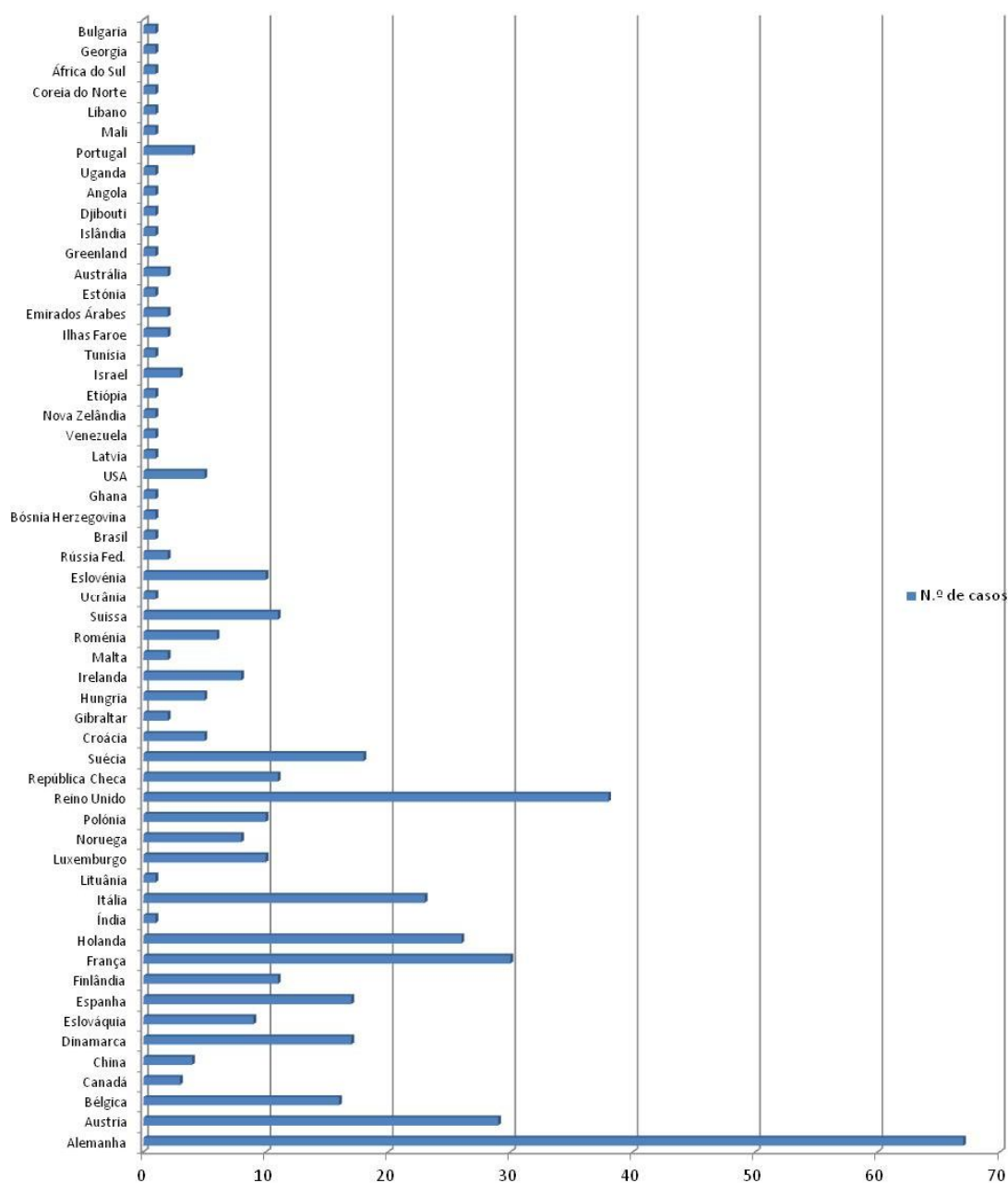
**Figura 7.28** – Status de distribuição face à acção tomada em casos de importação de cereais alvo de notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

Em 29% dos casos notificados não houve distribuição, mas em 27% dos casos a distribuição foi possível. Cerca de 17% dos casos notificados tiveram permissão de distribuição unicamente no país notificado e em 15% dos casos não existe informação sobre o destino que foi dado ao produto.

Esta lacuna na informação que não se detectou no caso específico do arroz poderá dever-se a uma maior variedade de produtos envolvidos o que pode acarretar algumas falhas na sua rastreabilidade.

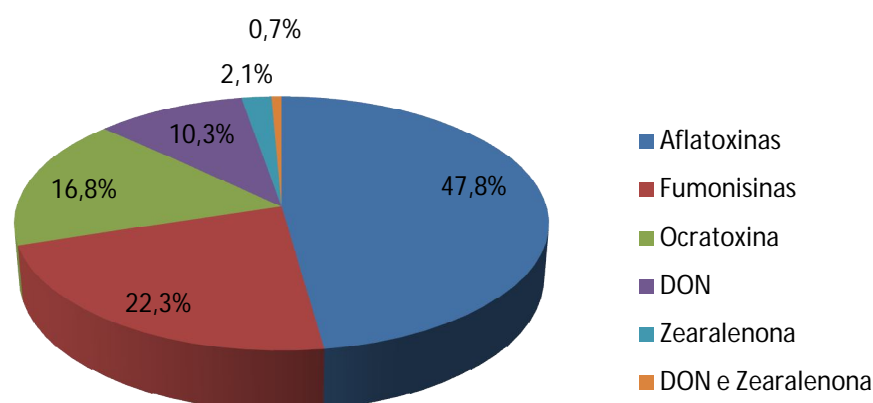
Verifica-se ainda que em 5% dos casos houve distribuição do produto para outros países membros e em 5% dos casos a informação sobre a distribuição ainda não se encontrava disponível. Em 2% dos casos já não havia stock disponível.

Na Figura 7.29 verifica-se que os principais países distribuidores de cereais que foram alvo de notificação RASFF por contaminação com micotoxinas entre 2000 e 2012 foram a Alemanha, o Reino Unido e a França, que apresentaram valores próximos ou superiores a 30% da totalidade das notificações.



**Figura 7.29** – Países que distribuíram cereais com notificação RASFF no período de 2000 a 2012.

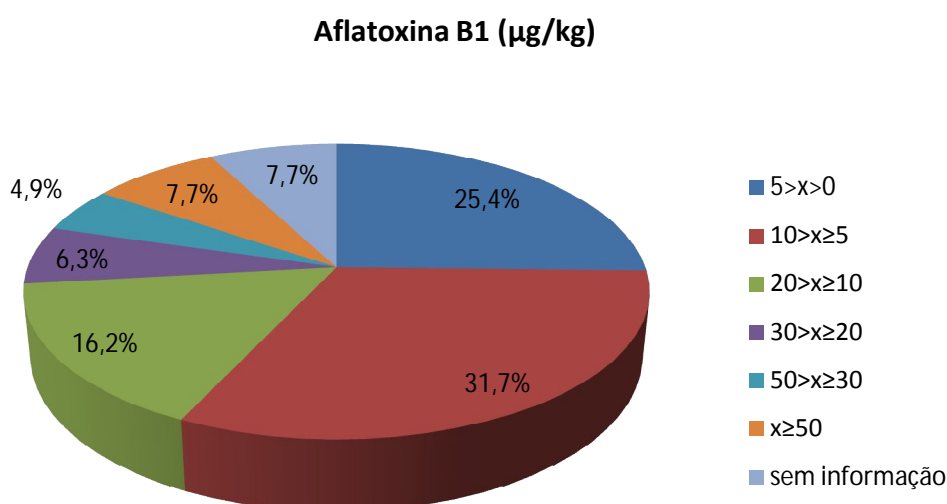
As principais micotoxinas detectadas em cereais e notificadas no sistema RASFF no período em análise foram aflatoxinas (47,8%), fumonisinas (22,3%), ocratoxina A (16,8%) e DON ou desoxinivalenol (10,3%), (Figura 7.30).



**Figura 7.30** – Tipos de micotoxinas detectados em casos de notificações RASFF em cereais no período de 2000 a 2010.

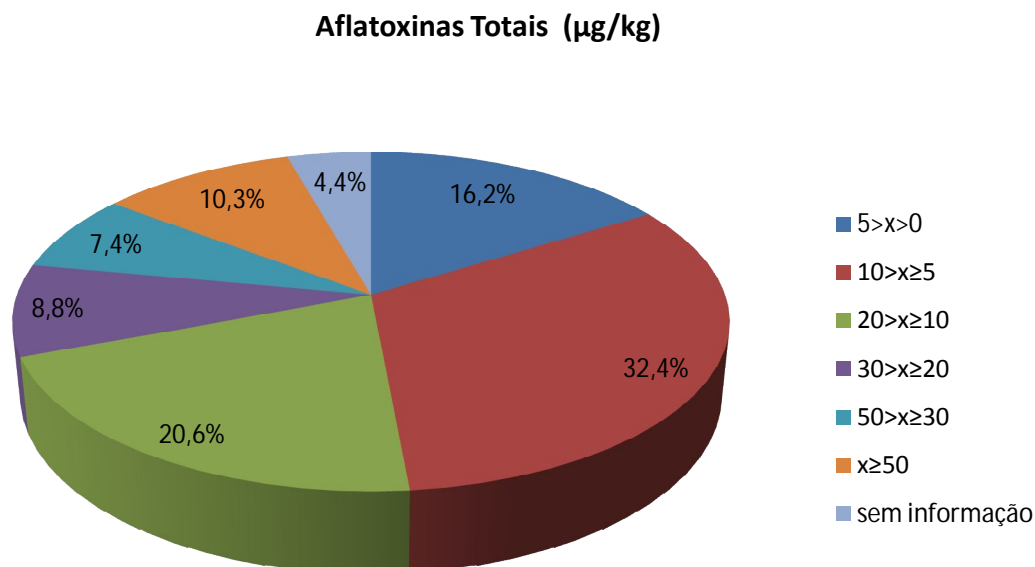
Estes resultados evidenciam a importância da monitorização de aflatoxinas em diversos produtos alimentares pois a frequência de detecção destas micotoxinas em alimentos de grande consumo torna-as um contaminante de grande risco para a saúde pública.

Mais de metade (57,1%) das notificações de aflatoxina B1 em cereais correspondem a concentrações inferiores a 10 µg/kg (Figura 7.31), mas 7,7% das notificações correspondem a concentrações bastante elevadas ( $\geq 50$  µg/kg).



**Figura 7.31** – Teores de aflatoxina B1 detectados nas amostras de cereais notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.

Já no caso das aflatoxinas totais (Figura 7.32) verifica-se que 20,6% dos casos se situam entre 10 e 20 µg/kg, 16,2% situam-se entre 0 e 5 µg/kg e 10,3% apresentam valores acima de 50 µg/kg.



**Figura 7.32** – Teores de aflatoxinas totais detectados nas amostras de cereais notificado por RASFF no período de 2000 a 2012.

Apesar de noutros cereais o limite máximo admissível de aflatoxinas apresentar valores diferentes dos do arroz, verifica-se que existem valores elevados para mais de 50% dos casos de cereais notificados devido à presença de micotoxinas, no período entre 2000 e 2012.

Assim, constatou-se que a ocorrência de micotoxinas e em particular de aflatoxinas, ocorre maioritariamente em arroz e em milho, podendo no caso do milho apresentar teores máximos de aflatoxinas totais e individuais superiores ao arroz.

No entanto, sendo o arroz um produto de grande consumo em Portugal e particularmente no caso do arroz Basmati que se popularizou nos últimos anos há que assegurar a sua segurança alimentar e nomeadamente demonstrar que está isento de aflatoxinas.

## Referências Bibliográficas:

- Bansal, J; Pantazopoulos, P; Tam, J; Cavlovic, P; Kwong, K; Turcotte, A. M; Lau, B. P. Y. (2011) Surveys of rice sold in Canada for aflatoxins, ochratoxin A and fumonisins. Food Additives and Contaminants. 8 (6): 767-774.
- Bhattacharjee, P; Singhal, R. S; Kulkarni, P. R. Basmati rice: a review. (2002) International Journal of food science and technology. 37: 1-12.
- Nguyen, M.T; Tozlovanu, M; Tran, T. L; Pfhof-Leskowicz, A. (2007) Occurrence of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. Food Chem. 105: 42-47.
- Reiter, E.V., Vouk, F., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E. (2010) Aflatoxins in rice – A limited survey of products marketed in Austria. Food Control. 21: 988–991.

## Sites consultados entre 01/03/12 e 01/09/12:

- FAO/WHO Guide for developing and improving national food recall systems. Pre-Publication Copy. June 2012:  
[http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/agns/pdf/empres/FAO\\_WHO\\_Recall\\_Doc\\_PrePubCopy\\_20120606.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/empres/FAO_WHO_Recall_Doc_PrePubCopy_20120606.pdf)
- Proposta de Regulamento do Conselho que altera o Regulamento (CE) nº 1251/1999, que institui um sistema de apoio aos produtores de determinadas culturas arvenses para que passe a abranger o arroz /\* COM/2000/0278 final - CNS 2000/0152 - Jornal Oficial nº C 311 E de 31/10/2000 p. 0342 – 0344:  
[http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:52000PC0278\(02\):PT:HTML](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:52000PC0278(02):PT:HTML)
- Millions of people across South Asia affected by monsoonal flooding. Press centre – (2007). UNICEF. [http://www.unicef.org/media/media\\_40495.html](http://www.unicef.org/media/media_40495.html)
- Rice Knowledge Management Portal (RKMP) (2011) -  
[http://www.rkmp.co.in/sites/default/files/ris/research\\_themes/Mycotoxin%20Contamination%20of%20Rice.pdf](http://www.rkmp.co.in/sites/default/files/ris/research_themes/Mycotoxin%20Contamination%20of%20Rice.pdf)



## CAPÍTULO VIII

### 8. – Conclusões

As micotoxinas são produtos carcinogénicos de elevada potência, pelo que constituem uma fonte de lesões crónicas com efeitos graves a nível da qualidade de vida e mesmo da taxa de mortalidade dos indivíduos expostos a estes contaminantes alimentares.

As aflatoxinas incluem-se no grupo das micotoxinas, sendo compostos altamente tóxicos, mutagénicos, teratogénicos e carcinogénicos que têm sido considerados como agentes causadores de carcinogénese hepáticas e extra-hepáticas em humanos.

No caso concreto da cultura do arroz, a presença de aflatoxinas tem sido detectada em vários mercados europeus.

O arroz, rico em hidratos de carbono, alimenta cerca de 50% da população mundial, sendo a terceira maior cultura cerealífera em todo o mundo. Em muitos países da Ásia, África e América latina, o arroz representa e representará durante os próximos anos, o principal cereal da sua dieta.

Tendo analisado a regulamentação internacional existente para aflatoxinas em arroz, conclui-se que existe grande incoerência dos limites máximos admissíveis a nível mundial. Este facto vem criar problemas à comercialização de produtos uma vez que sendo aceites num determinado país podem não sê-lo noutro. Enquanto na União Europeia, o limite máximo admissível (LMA) para aflatoxina (AF B1) é 2 µg/kg e para AF totais é 4 µg/kg, nos Estados Unidos, os valores permitidos são 20 µg/kg para aflatoxinas totais. Já no caso da China, principal produtor e exportador de arroz a nível mundial, o LMA para AFB1 no caso do arroz é de 20 µg/kg e não existe regulamentação para AF totais. A Índia, principal exportador de arroz Basmati, a seguir ao Paquistão apenas apresenta LMA para AF totais e esse valor é de 30 µg/kg, enquanto no Paquistão não existe mesmo regulamentação para aflatoxinas.

O desenvolvimento, em 1979, a nível europeu, de um sistema de alertas rápidos para alimentação humana e animal (RASFF), veio evitar muitas situações de risco alimentar que poderiam prejudicar a saúde dos consumidores. O RASFF permite, quando combinado com outros dados, estabelecer critérios que possibilitam a criação de métodos para detectar riscos emergentes para a segurança alimentar. Além disso, permite verificar os casos mais frequentes que ocorreram num dado período.

No presente trabalho compilaram-se os dados RASFF de contaminação de arroz, cereais e seus derivados com micotoxinas no período de Janeiro de 2000 a Agosto de 2012 e retiraram-se as seguintes conclusões:

#### **Para o caso do Arroz verifica-se que:**

- Os principais meses em que ocorrem notificações por aflatoxinas correspondem aos meses em que ocorrem as monções na Ásia, o que está de acordo com o facto de as micotoxinas serem produzidas por fungos que se desenvolvem mais quando existe humidade relativa elevada;
- De 2007 a 2010 o número de ocorrências foi mais elevado que nos anteriores, o que poderá estar relacionado com uma época em que se deram várias inundações de carácter excepcional na região Asiática. Contudo esse aumento também pode estar relacionado com o aumento do consumo de arroz Basmati na Europa nos últimos anos;
- A maioria das notificações deveu-se a controlo fronteiriço e apenas uma pequena parte corresponde a controlo pelas empresas. Deduz-se que notificações efectuadas depois da travessia da fronteira estejam relacionadas ou com um posterior desenvolvimento de fungo que origina o aparecimento da aflatoxina ou alguma situação pré-existente e não detectada antes;



- Verifica-se que o Paquistão é o principal país de origem do arroz com maior número de notificações pelo RASFF devido à presença de aflatoxinas, seguido da Índia e Sri Lanka;
- Cerca de 50% dos casos ocorrem nos produtos arroz Basmati e Basmati integral que é um tipo de arroz que precisa de envelhecimento para adquirir as suas características aromáticas, podendo nessa fase vir a desenvolver micotoxinas, uma vez que as condições climáticas dos países em que se produzem são propícias ao desenvolvimento de fungos;
- Na maioria dos casos em que foi detectada a presença de aflatoxinas em arroz, a importação ou não foi autorizada, ou o produto foi retirado do mercado, como forma de salvaguardar a saúde do consumidor. Também quanto à distribuição do produto, as medidas mais tomadas foram a interdição à distribuição ou a restrição ao país notificado;
- Verificou-se ainda que em 65% dos casos detectados os níveis de aflatoxina B1 encontram-se acima de 5 µg/kg quando o LMA na UE é 2 µg/kg; o mesmo se passa para AF totais cujo LMA é 4 µg/kg, o que constitui um risco para a saúde pública, caso não fosse detectado.

**Para o caso dos cereais e seus derivados concluiu-se o seguinte:**

- Nestes casos não se observa tanto a influência climática sobre o aparecimento de maior ou menor número de notificações. Provavelmente, tal deve-se ao facto de os diferentes produtos serem proveniente de diferentes regiões do globo, pelo que o efeito climático se dilui. No entanto observa-se um maior número de ocorrências de 2006 a 2008, o que poderá estar ou não relacionado com o aperfeiçoamento de técnicas de detecção ou simplesmente com um maior número de ocorrências em arroz e farinha de milho nesse período;
- Da mercadoria notificada, apenas 22% foi rejeitada, tendo as principais medidas tomadas sido a emissão do alerta ou a informação, pois a base da notificação foi o controlo no mercado e os produtos já se encontravam em circulação. Para o caso dos cereais, apenas cerca de 30% das ocorrências sofreram rejeição fronteiriça, o que se pode dever a uma maior diversificação das portas de entrada do produto e a menor centralização no controlo fronteiriço;
- Os países que sofreram maior número de notificações foram o Paquistão e a Índia devido a arroz contaminado e a Itália devido a elevados teores de micotoxinas em farinha de milho e em massas alimentícias;
- Em quase metade dos casos de notificações por micotoxinas em cereais, o produto ou é retirado do mercado, ou é efectuado o *recall* aos consumidores, ou o produto é destruído, o que constitui medidas de preservação da segurança alimentar dos consumidores. Nestes casos não houve distribuição ou ficou restringida ao país notificado, na maioria das vezes (com excepção de alguns casos em que a distribuição no mercado foi possível);
- Cerca de metade das micotoxinas detectadas em cereais são aflatoxinas e cerca de 75% encontram-se acima de 5 µg/kg, assim apesar de noutros cereais o limite máximo admissível de aflatoxinas apresentar valores diferentes dos do arroz, verifica-se que existem valores elevados para mais de 50% dos casos de cereais notificados devido à presença de micotoxinas, no período entre 2000 e 2012.

A presença de aflatoxinas nos alimentos destinados a consumo humano supõe um risco óbvio potencial para a saúde pública. No entanto, desconhece-se até que ponto se manifesta esse potencial. Porém, só o facto de existirem, constitui um motivo bastante forte para que sejam detectadas de forma a impedir o contacto do consumidor com produtos de elevada toxicidade. Para que isso se consiga, seria importante que a regulamentação e o estabelecimento dos teores máximos residuais fosse uniforme a nível mundial, de modo a dar ao consumidor uma garantia de qualidade alimentar, independentemente da origem dos alimentos que consome. A detecção de casos de

presença de aflatoxinas acima do LMA da UE em arroz importado, adquirido em vários mercados de países europeus é mais uma prova dessa importância.

Portugal é o principal país consumidor de arroz na UE e importa cerca de metade do arroz que consome. A inexistência de estudos para detecção dos teores de aflatoxinas em arroz importado à venda nas cadeias de abastecimento nacional torna imperativa a necessidade de fazer diligências nesse sentido.

Também a necessidade de desenvolvimento de métodos práticos e eficientes de detecção qualitativa e quantitativa de aflatoxinas é um trabalho a desenvolver, de modo a tornar o controlo fronteiriço mais eficaz.



## **Anexos**